

Haben Kinder und Adoleszenten mit Idiopathischem Kleinwuchs eine verminderte  
Steroidhormonbiosynthese?

Inauguraldissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin

des Fachbereichs Medizin

der Justus-Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von Abayie, Gertrude Achiaa, geb. Sarpong

aus Bechem, Ghana

Gießen 2016

Aus der Abteilung für Allgemeine Pädiatrie und Neonatologie

Prof. Dr. med. Klaus-Peter Zimmer, der JLU, Gießen

Gutachter: Prof. Dr. med. Stefan Wudy

Gutachter: Prof. Dr. med. Andreas Schäffler

Tag der Disputation: 12.12.2017

Meinen Eltern

# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Einleitung .....</b>	<b>1</b>
1.1	<b>ISS – Idiopathischer Kleinwuchs .....</b>	<b>1</b>
1.1.1	Definition und Erklärung .....	1
1.1.2	Häufigkeit.....	1
1.1.3	Ätiologie.....	2
1.1.4	Diagnostik .....	2
1.1.5	Therapie.....	3
1.2	<b>Fragestellung.....</b>	<b>3</b>
1.3	<b>Pubertät - Beginn, Merkmale, Einteilung .....</b>	<b>4</b>
1.3.1	Hormoneller Regelkreis .....	4
1.3.2	Pubertätsbeginn und -merkmale.....	4
1.3.3	Pubertätsstadien.....	5
1.4	<b>Biosynthese und Metabolismus der Steroidhormone .....</b>	<b>7</b>
1.4.1	Biosynthese .....	7
1.4.2	Metabolismus .....	11
1.4.3	Metabolismus einzelner Plasmasteroide .....	11
1.4.4	5 $\alpha$ -Reductase, 11 $\beta$ -Hydroxy-Steroiddehydrogenase und 3 $\beta$ -Hydroxy-Steroiddehydrogenase .....	18
1.5	<b>Urinmetaboliten .....</b>	<b>22</b>
1.6	<b>Gaschromatographie-Massenspektrometrie .....</b>	<b>24</b>
1.6.1	Gaschromatographie.....	25
1.6.2	Massenspektrometrie.....	26
<b>2</b>	<b>ISS-Probanden, Kontrollgruppe und Methodik .....</b>	<b>27</b>
2.1	<b>ISS-Probanden .....</b>	<b>27</b>
2.1.1	Ein- und Ausschlusskriterien und Beschreibung .....	27
2.2	<b>Kontrollgruppe .....</b>	<b>29</b>
2.3	<b>Vergleich der ISS-Probanden mit den Kontrollen bezüglich der anthropometrischen Daten .....</b>	<b>31</b>
2.4	<b>Material und Methoden .....</b>	<b>32</b>
2.4.1	Urinsammlung.....	32
2.4.2	Methode der gaschromatographisch-massenspektrometrischen Harnsteroidhormonanalyse.....	33
2.5	<b>Verwendete Software .....</b>	<b>33</b>
2.6	<b>Berechnungen und statistische Analyse.....</b>	<b>33</b>
2.6.1	Berechnung der Körperoberfläche .....	34
2.6.2	Berechnung des SDS .....	34

2.6.3	Einstichproben-t-Test .....	35
2.6.4	Regressionsanalyse.....	35
<b>2.7</b>	<b>Graphische Darstellung .....</b>	<b>35</b>
<b>3</b>	<b>Darstellung der Ergebnisse .....</b>	<b>37</b>
<b>3.1</b>	<b>Hormonexkretionsraten und Enzymaktivitäten der Probanden im Vergleich zum Normalkollektiv .....</b>	<b>37</b>
3.1.1	Exkretionsraten von DHEA und Metaboliten .....	38
3.1.2	Exkretionsraten der Glucocorticoid-Metaboliten .....	55
3.1.3	Enzymaktivitäten.....	85
<b>3.2</b>	<b>Zusammenfassung der Ergebnisse.....</b>	<b>94</b>
3.2.1	Hormone.....	94
3.2.2	Enzymaktivitäten.....	98
<b>3.3</b>	<b>Einfluss von Alter und BMI auf die Hormonexkretion bzw. Enzymaktivität .....</b>	<b>99</b>
<b>4</b>	<b>Diskussion .....</b>	<b>101</b>
<b>4.1</b>	<b>Steroidhormonanalyse.....</b>	<b>101</b>
<b>4.2</b>	<b>ISS-Probanden .....</b>	<b>102</b>
<b>4.3</b>	<b>Hormone .....</b>	<b>102</b>
4.3.1	DHEA und Metaboliten .....	103
4.3.2	Glucocorticoidmetaboliten .....	106
<b>4.4</b>	<b>Enzymaktivitäten.....</b>	<b>108</b>
<b>4.5</b>	<b>Warum sind die Hormonausscheidungsraten bei ISS reduziert?.....</b>	<b>110</b>
4.5.1	3 $\beta$ -HSD.....	110
4.5.2	Leptin .....	110
<b>4.6</b>	<b>Diskussionen über Einflussfaktoren des ISS in der Literatur.....</b>	<b>113</b>
4.6.1	Leptin und Ghrelin .....	113
4.6.2	IGF-1 .....	114
4.6.3	Ernährung .....	114
<b>4.7</b>	<b>Schlussfolgerung .....</b>	<b>115</b>
<b>5</b>	<b>Zusammenfassung.....</b>	<b>116</b>
<b>6</b>	<b>Abkürzungsverzeichnis.....</b>	<b>120</b>
<b>7</b>	<b>Steroidnomenklatur .....</b>	<b>123</b>
<b>8</b>	<b>Abbildungs- und Tabellenverzeichnis .....</b>	<b>124</b>
<b>9</b>	<b>Literaturverzeichnis.....</b>	<b>128</b>

# **1 Einleitung**

## **1.1 ISS – Idiopathischer Kleinwuchs**

### **1.1.1 Definition und Erklärung**

Der Idiopathische Kleinwuchs (engl. ISS = Idiopathic short stature) ist eine Form des Kleinwuchses. Die Ätiologie ist weitgehend noch unklar. Typisch für ISS ist, dass es keine medizinisch begründbare organische Ursache gibt.

Der Idiopathische Kleinwuchs schließt die Konstitutionelle Entwicklungsverzögerung (KEV) und den Familiären Kleinwuchs (engl. FSS – Familial short stature) mit ein.

Bei der KEV verläuft das Längenwachstum unterhalb der 3. Perzentile und es liegt eine Knochenalterretardierung von mindestens 1 Jahr vor. Weiterhin ist die Familienanamnese positiv für eine Wachstums- und Pubertätsverzögerung. Die Diagnose KEV kann erst mit Eintritt der Pubertät sicher gestellt werden, wenn offensichtlich eine Reifungsverzögerung vorliegt.

Auch beim FSS ist die Familienanamnese positiv für Kleinwuchs. Der familiäre Zielgrößenbereich liegt unter dem Referenzbereich der Normalpopulation. Im Gegensatz zur KEV liegen aber keine Knochenalterretardierung und keine Verzögerung des Pubertätseintritts vor (nach Wudy et al. 2005).

Zudem wurde beobachtet, dass die betroffenen Kinder- und Adoleszenten mit KEV und FSS häufig schlank sind und von ihren Eltern als schlechte und wählerische Esser beschrieben werden.

Da eine strikte Trennung von FSS und KEV schwierig ist, - viele Patienten weisen Merkmale beider Entitäten auf - wird in der vorliegenden Arbeit der Oberbegriff ISS verwendet.

### **1.1.2 Häufigkeit**

Bei ca. 80% aller Kinder mit Kleinwuchs wird ISS diagnostiziert (Pedicelli et al. 2009). Die KEV ist dabei die häufigste Ursache für verspäteten Pubertätseintritt (Sedlmeyer u. Palmert 2002, Sedlmeyer et al. 2002) und Wachstumsverzögerung (De Luca et al. 2001). Die Häufigkeit des Auftretens beträgt ca. 3 % und wird bei Jungen deutlich häufiger beobachtet als bei Mädchen (Binder 2014).

### **1.1.3 Ätiologie**

Wie bereits oben erläutert, spielt die familiäre Vorbelastung eine große Rolle.

Daneben wird ein Wachstumshormonmangel diskutiert. Hierbei handelt es sich eher um einen funktionellen GH-Mangel (GH = Growth Hormone), der durch die verspätete Pubertät induziert wird. Ein manifester GH-Mangel konnte bisher noch nicht eindeutig mit ISS in Verbindung gebracht werden. Laut Pedicelli et al. 2009 haben Kinder mit ISS eine normale GH-Sekretion während IGF-1 meist im niedrig normalen Bereich liegt. Sie betonen jedoch, dass theoretisch Fälle von spontan-niedrigen GH-Sekretionen, genetischen Fehlbildungen, Fehlfunktionen von GH-Promotern, veränderten GH-Molekülen oder auch verminderter Ansprechbarkeit auf GH aufgrund eines genetischen Defekts in der Signaltransduktion bestehen können, die allesamt bisher noch nicht entdeckt bzw. analysiert wurden.

### **1.1.4 Diagnostik**

Die Anamnese des Kindes beinhaltet die Frage nach Geburtsgewicht- und -größe sowie Gestationsalter. Ferner interessieren Schwangerschaftsverlauf und Geburt, Informationen über Vorerkrankungen und Operationen, die Medikamentenanamnese, Ernährungsanamnese- und status (Pedicelli et al. 2009).

Aufgrund der genetischen Prädisposition gehört die Familienanamnese zur Diagnostik: Nach Wachstumsverhalten und -störungen, Schilddrüsen- und anderen endokrinen Erkrankungen, Skelettdysplasien und Autoimmunerkrankungen sowie nach der Elterngröße und dem Pubertätseintritt bei den Eltern wird gefragt.

Zur körperlichen Untersuchung gehören die Messung von Länge bzw. Größe, Gewicht und Kopfumfang. Weiterhin wird das Pubertätsstadium ermittelt (bei Mädchen anhand der Brustgröße, bei Jungen anhand der Testisgröße).

Des Weiteren kann durch Bestimmung des Knochenalters eine für die KEV typische Knochenalterretardierung festgestellt werden. Hierfür dient eine dorsovolare Röntgenaufnahme der gespreizten linken Hand einschließlich der Ulna- und Radiusepiphysen. Die Interpretation des Bildes erfolgt mit Hilfe von Atlanten, die auf der Basis jahrzehntelanger Dokumentationen durch Greulich und Pyle erstellt wurden. Laboruntersuchungen dienen dem Ausschluss einer chronischen Anämie, Nierenerkrankungen, Rachitis, einer Malabsorption, einer Zöliakie, Schilddrüsenerkrankungen sowie einer Wachstumshormonstörung.

### 1.1.5 Therapie

Eine Therapie des ISS ist in der Regel nicht erforderlich.

Wird dennoch eine Behandlung in Betracht gezogen, so besteht die Möglichkeit der Therapie mit GH, Androgenen und Aromatase-Inhibitoren.

Die Therapie mit GH beschleunigt das Wachstum im ersten Behandlungsjahr. Der Effekt auf die endgültige Größe wird jedoch kontrovers diskutiert (Pedicelli et al. 2009).

Für Jungen mit KEV, deutlich verzögerter Pubertät und deutlicher

Knochenalterretardierung ist die Therapie mit Testosteron geeignet. Als Alternative kann das Oxandrolon verwendet werden. Dieses hat allerdings den Nachteil, dass es schwach androgen wirksam ist und zudem eine leichte Hepatotoxizität aufweist (Pedicelli et al. 2009).

Aromataseinhibitoren können die Endgröße, zumindest bei Jungen, erhöhen. Dunkel fand 2006 heraus, dass sich bei Jungen, die mit einer Kombination aus Testosteron und dem Aromataseinhibitor Letrozol therapiert wurden, eine Reifung des Knochenalters, ein gutes Wachstum sowie eine Zunahme der Zielgröße zeigten.

## 1.2 Fragestellung

Dem ISS lassen sich folgende Charakteristika zuordnen:

- temporär ein langsames Wachstum
- ein retardiertes Knochenalter
- ein später Pubertätsbeginn
- ein niedriges Gewicht bzw. BMI (Body Mass Index) und
- ein funktioneller Wachstumshormonmangel.

Hängen diese Charakteristika mit der Steroidhormonproduktion zusammen? Wenn ja, lassen sich in einem Vergleich zwischen Kindern mit ISS und einem Normalkollektiv Unterschiede in der Menge der Steroidhormonproduktion finden?

Insbesondere der verspätete Pubertätseintritt legt die Vermutung nahe, dass bei Kindern mit KEV gegenüber anderen Kindern die Steroidhormonproduktion vermindert ist. Dies ist bisher noch nicht untersucht worden und soll Aufgabe der vorliegenden Arbeit sein.



Doch zunächst soll im nächsten Kapitel auf den Ablauf der Pubertät eingegangen werden.

## **1.3 Pubertät - Beginn, Merkmale, Einteilung**

### **1.3.1 Hormoneller Regelkreis**

Zu Beginn der Pubertät kommt es zu einer Aktivierung der hypothalamisch-hypophysären-gonadalen Achse. Die Freisetzung von Gonadotropin Releasing Hormone (GnRH) im Hypothalamus führt zunächst zu episodischen nächtlichen Freisetzungen von Gonadotropinen aus dem Hypophysenvorderlappen. Dies wird als Gonadarche bezeichnet.

Während der folgenden 1-2 Jahre führt nun die vermehrte Freisetzung von Gonadotropinen zur gesteigerten Synthese von Sexualsteroiden in den Gonaden (Testes, Ovarien). Das Luteinisierende Hormon (LH) führt in den Ovarien (Thekazellen) und in den Hoden (Leydig Zellen) zur Synthese von Androgen-Vorstufen und von Testosteron. Das Follikel stimulierende Hormon (FSH) führt über die Stimulierung von Aromatasen zur Synthese von Östrogen aus den Androgen-Vorstufen.

### **1.3.2 Pubertätsbeginn und -merkmale**

Die äußeren Merkmale der Pubertät sind gekennzeichnet durch die Ausbildung der sekundären Geschlechtsmerkmale und das beschleunigte Körperlängenwachstum. Ersteres ist bei Mädchen die Thelarche, d.h. die Entwicklung der Brustknospen, die etwa mit 10,6 Jahren eintritt. 6 Monate zuvor tritt die Pubarche ein, d.h. das Auftreten der ersten Schambehaarung. Ca. 2 Jahre nach Pubertätsbeginn tritt die Menarche ein, die in Deutschland bei ca. 12,8 Jahren liegt (Land 2012).

Bei Jungen beginnt die Pubertät klinisch mit der Zunahme des Hodenvolumens auf über 3 ml im Alter von ca. 11,8 Jahren. Das Peniswachstum setzt mit der Zunahme des Hodenvolumens ein. Im Alter von ca. 12,2 Jahren beginnt die Schambehaarung (Land 2012).

### **1.3.3 Pubertätsstadien**

Zur Beurteilung des körperlichen Reifegrades dient die Stadieneinteilung der Pubertät nach Tanner. Hierbei werden bei Mädchen die Brustentwicklung, bei Jungen die Genitalentwicklung sowie bei beiden Geschlechtern die Pubesbehaarung beurteilt. In Tabelle 1 werden die einzelnen Pubertätsstadien nach Tanner für Jungen und Mädchen beschrieben.

**Tabelle 1:** Einteilung der Pubertätsstadien nach Tanner

<b>Brustentwicklung des Mädchens</b>	
B1	Vorpubertär - keine tastbare Brustdrüse.
B2	Pubertätsbeginn - tastbare Brustknospe, leicht vergrößerte Areola (Warzenhof).
B3	Die Brust beginnt sich zu wölben. Der Durchmesser des Drüsengewebes ist größer als die Areola.
B4	Zunahme der Brustdrüsengröße, Mamille und Areola heben sich von der Brustdrüse ab.
B5	Adultes Stadium - Die Areola bildet eine Ebene mit der Brustkontur, die Mamille steht hervor.
<b>Genitalentwicklung des Jungen</b>	
G1	Vorpubertäres Stadium - Hodenvolumen $\leq 3$ ml, infantiler Penis.
G2	Pubertätsbeginn - Hodenvolumen $> 3$ ml, Skrotalhaut rötlicher und dünner als zuvor, Penislänge noch unverändert.
G3	Zunahme von Penislänge und Hodenvolumen (6-12 ml), Skrotum wird größer.
G4	Penislänge nimmt weiter zu, Entwicklung der Glans, Hodenvolumen 12-18 ml.
G5	Adulter Status.
<b>Entwicklung der Schambehaarung</b>	
P1	Vorpubertär - keine echte Behaarung im Schambereich, nur feines Flaumhaar.
P2	Wenige leicht pigmentierte, gerade Haare auf den äußeren Schamlippen beim Mädchen bzw. an der Basis des Penis und des Skrotums beim Jungen.
P3	Dunklere, dichtere und gekräuselte Haare über der Symphyse.
P4	Ausbreitung der Schambehaarung über die Mons pubis.
P5	Adultes Stadium - Ausbreitung der Schamhaare seitlich über die Oberschenkel und nach oben horizontal begrenzt.
P6	Weitere dreieckförmige Ausdehnung auf der Linea alba gegen den Nabel hin (bei 80 % der Männer und 10 % der Frauen).

*Modifiziert nach Land 2012*

## 1.4 Biosynthese und Metabolismus der Steroidhormone

Da sich die vorliegende Arbeit im Wesentlichen mit dem Steroidmetabolismus befasst, soll im Folgenden kurz auf die Biosynthese und anschließend auf den Metabolismus einiger Steroidhormone eingegangen werden.

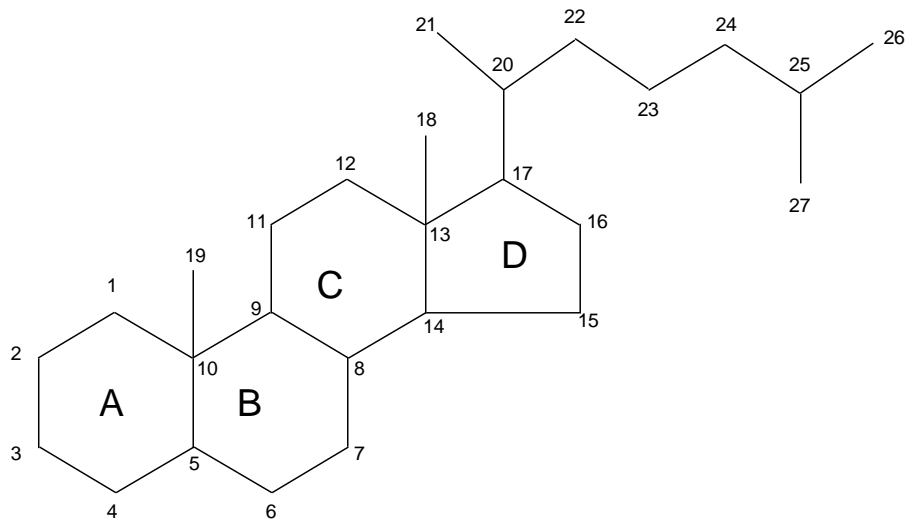
### 1.4.1 Biosynthese

Hauptsächlich werden die Steroidhormone in der Nebennierenrinde und in den Gonaden produziert.

Das Grundgerüst der Steroidhormone bildet ein polycyclisches Kohlenstoffatom-Ringsystem (Cyclopentanoperhydrophenanthren-Ringsystem), das aus 17 Kohlenstoffatomen besteht (C17). Kommt ein 18. Kohlenstoffatom hinzu, so entsteht ein Estran-Ring, C18. Als Androstan-Ring wird das C19-Gerüst bezeichnet. Durch Hinzufügen weiterer Seitenketten entstehen das Pregnan (C20-C21), das Cholan (C20-C24) oder das Cholestan (C20-C27). Die wichtigsten Steroidhormone des Säugetieres sind die C18, C19 und C21-Steroide (Goad 1984).

Zu den C18-Steroiden gehören die Östrogene. Zu den C19-Steroiden gehören die Androgene (DHEA und –Sulfat, 4-Androstendion und Testosteron). Glucocorticoide und Mineralcorticoide (Hauptvertreter sind Cortisol und Aldosteron) gehören zu den C21-Steroiden. Auch die Gestagene (weibliche Hormone mit dem Progesteron als Hauptvertreter) gehören zu den C21-Steroiden.

Abbildung 1 stellt das Steroidgerüst am Beispiel des Cholesterins dar.



**Abbildung 1:** Struktur des Cholesterins

*A, B, C und D kennzeichnen das Cyclopentanoperhydrophenanthren-Ringsystem . Mit den Zahlen 1-27 sind die Kohlenstoffatome durchnummeriert.*

Die drei Hauptendprodukte, die aus der Synthese des Cholesterins entstehen, sind die Mineralcorticoide, die Glucocorticoide, sowie die Sexualhormone.

Die Mineralcorticoide werden in der Zona glomerulosa, der äußersten Schicht der NNR synthetisiert. Die Glucocorticoide entstehen in der Zona fasciculata, der mittleren Schicht. In der Zona reticularis, der innersten Schicht der NNR, entstehen die Androgene.

In der vorliegenden Arbeit richtet sich das Hauptaugenmerk auf die Glucocorticoide und die Sexualhormone bzw. ihre Metaboliten bei Kindern und Jugendlichen mit ISS.

Bei der Glucocorticoidbiosynthese entsteht zunächst aus dem Cholesterin das Pregnenolon, aus welchem wiederum das Progesteron entsteht. Aus dem Progesteron wird schließlich durch Hydroxylierungsreaktionen (Einführung von OH-Gruppen) das Cortisol.

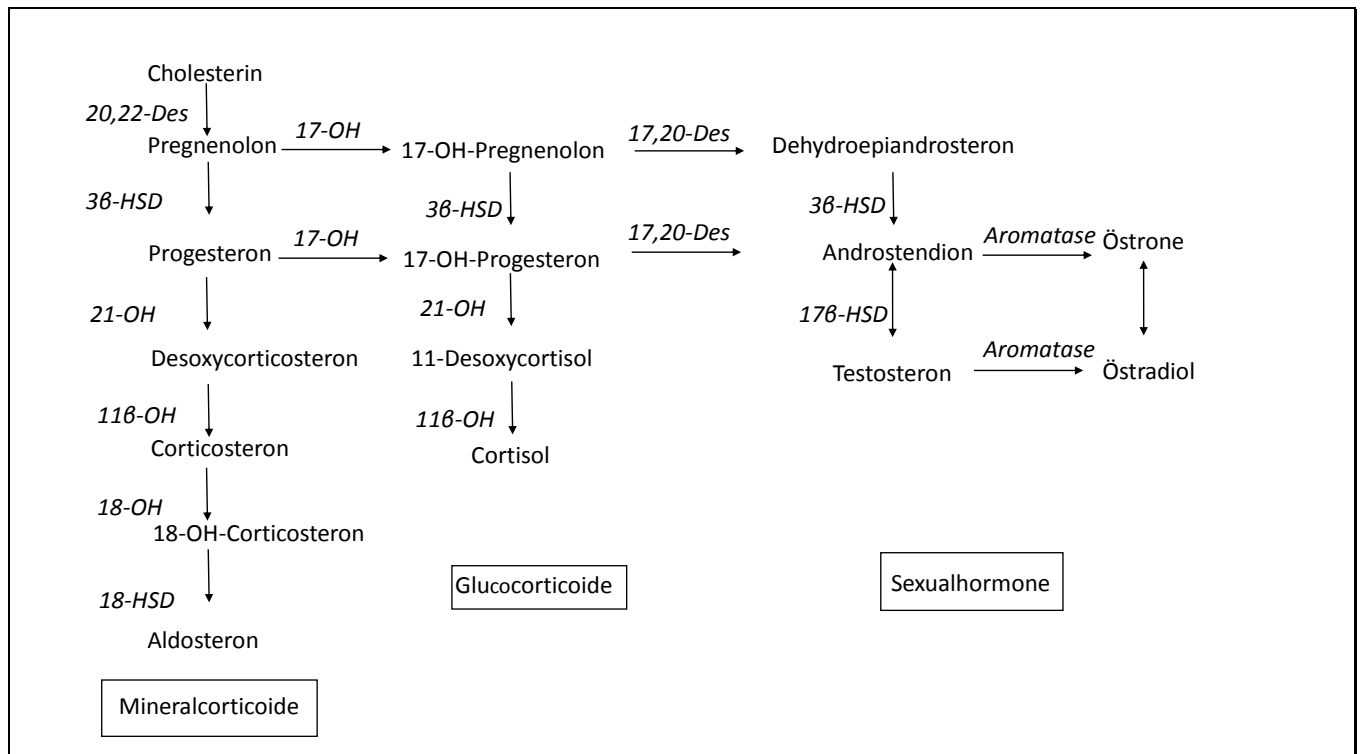
Die Synthese und Sekretion der Glucocorticoide unterliegt dem Regelkreis der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren-Achse: Der Hypothalamus setzt das Corticotropin Releasing Hormone (CRH) frei. Dieses führt im

Hypophysenvorderlappen zur Sekretion des Adrenocorticotropin Releasing Hormone (ACTH). Das ACTH stimuliert in der Nebennierenrinde die Synthese und Freisetzung von Cortisol. Das Cortisol wiederum führt zur Hemmung der ACTH-Sekretion im Hypophysenvorderlappen und Hemmung der CRH-Freisetzung im Hypothalamus (negative Rückkopplung). (Löffler 1999).

Bei den Sexualsteroiden werden die Androgene von den Estrogenen unterschieden. Androgene fördern die Entwicklung der männlichen Geschlechtsmerkmale, während Estrogene für die Entwicklung der weiblichen Geschlechtsmerkmale zuständig sind. In dieser Arbeit wurde die Androgensekretion untersucht.

Die ersten Schritte der Androgensynthese bestehen, wie bei der Glucocorticoidbiosynthese, aus der Umwandlung von Pregnenolon, dann Progesteron aus Cholesterin. Durch die oxidative Abspaltung der Seitenketten entstehen die androgen wirksamen Hormone Dehydroepiandrosteron (DHEA), Androstendion und Testosteron.

Abbildung 2 stellt die Synthese der Steroidhormone mit dem Cholesterin als Ausgangsprodukt dar.



**Abbildung 2:** Synthese der Steroidhormone

Modifiziert nach Wudy und Hartmann 2011, S. 384.

Abkürzungen der Enzymnamen: 20,22-Des = 20,22-Desmolase; 17,20-Des = 17,20-Desmolase; 3β-HSD = 3β-Hydroxysteroiddehydrogenase; 17β-HSD = 17β-Hydroxysteroiddehydrogenase; 18-HSD = 18-Hydroxysteroiddehydrogenase; 17-OH = 17α-Hydroxylase; 21-OH = 21-Hydroxylase; 11β-OH = 11β-Hydroxylase; 18-OH = 18-Hydroxylase

Das Hormon 17,20-Desmolase hat eine höhere Affinität zum 17-OH-Pregnenolon als zum 17-OH-Progesteron. Daraus folgt, dass fast die gesamte Androgenhormonsynthese über DHEA läuft (Idkowiak et al. 2011).

An der Steroidhormonsynthese sind sechs sog. Cytochrom P450-Enzyme beteiligt. Cytochrome sind oxidativ wirksame Enzyme mit einer Hämgruppe, d.h. einem Eisen(III)-Ion im Zentrum, an dem die Katalyse stattfindet. Alle P450-Enzyme aktivieren molekularen Sauerstoff, indem sie ein Elektron von der reduzierten Form des Coenzyms Nikotinamid Adenin Dinucleotid Phosphat (NADPH) übertragen. Das menschliche Genom enthält Gene für 57 P450-Enzyme.

Es werden zwei Formen der P450-Enzyme unterschieden. Als Typ 1 werden die P450-Enzyme bezeichnet, deren Reaktionen im Mitochondrium stattfinden. Die Reaktionen der Typ 2-Enzyme finden im Endoplasmatischen Retikulum statt (Miller und Auchus 2011).

Das mitochondriale P450<sub>scc</sub> (scc = side chain cleavage) ist das Enzym, welches die Spaltung der Cholesterin-Seitenkette katalysiert. Das Enzym wird in Abbildung 2 als 20,22-Desmolase bezeichnet. Die zwei mitochondrialen Isozyme P450<sub>c11</sub> und P450<sub>c11β</sub> sowie P450<sub>c11AS</sub> (Aldosteronsynthase) katalysieren Reaktionen der 11β-Hydroxylase, 18-Hydroxylase und der 18-Methyloxidase.

Im Endoplasmatischen Retikulum katalysiert P450<sub>c17</sub> die Reaktionen der 17α-Hydroxylase und der 17,20-Lyase. P450<sub>c21</sub> katalysiert Reaktionen der 21-Hydroxylase bei der Glucocorticoid- und Mineralcorticoidsynthese. P450<sub>aro</sub> katalysiert die Aromatisierung der Androgene zu Östrogenen (s. Abbildung 2). (Miller und Auchus 2011).

### 1.4.2 Metabolismus

Steroidhormone sind hydrophobe (nicht in Wasser lösliche) Substanzen, die durch die katabolen Mechanismen, also die Biotransformation, sowohl inaktiviert als auch in hydrophile (wasserlösliche), Substanzen überführt werden. Während der Metabolisierung, die hauptsächlich in der Leber stattfindet, erfolgt die Glucuronidierung und Sulfatierung der Steroide, die dann anschließend zum größten Teil über den Urin ausgeschieden werden. Der polycyclische Kohlenstoffatomring des Steroidhormons wird während der Metabolisierung nicht abgebaut.

Die wichtigsten Urinsteroide beim Gesunden sind konjugierte Metaboliten von Dehydroepiandrosteron-Sulfat (DHEA-S), Progesteron, Corticosteron und Cortisol (Wudy und Hartmann 2011).

### 1.4.3 Metabolismus einzelner Plasmasteroide

Im Folgenden wird der Metabolismus einzelner Plasmasteroide beschrieben. Es werden hauptsächlich die Plasmasteroide genannt, die für die vorliegende Arbeit relevant sind. (Quelle: Wörsinger 2001).

#### 1.4.3.1 17-Hydroxypregnenolon

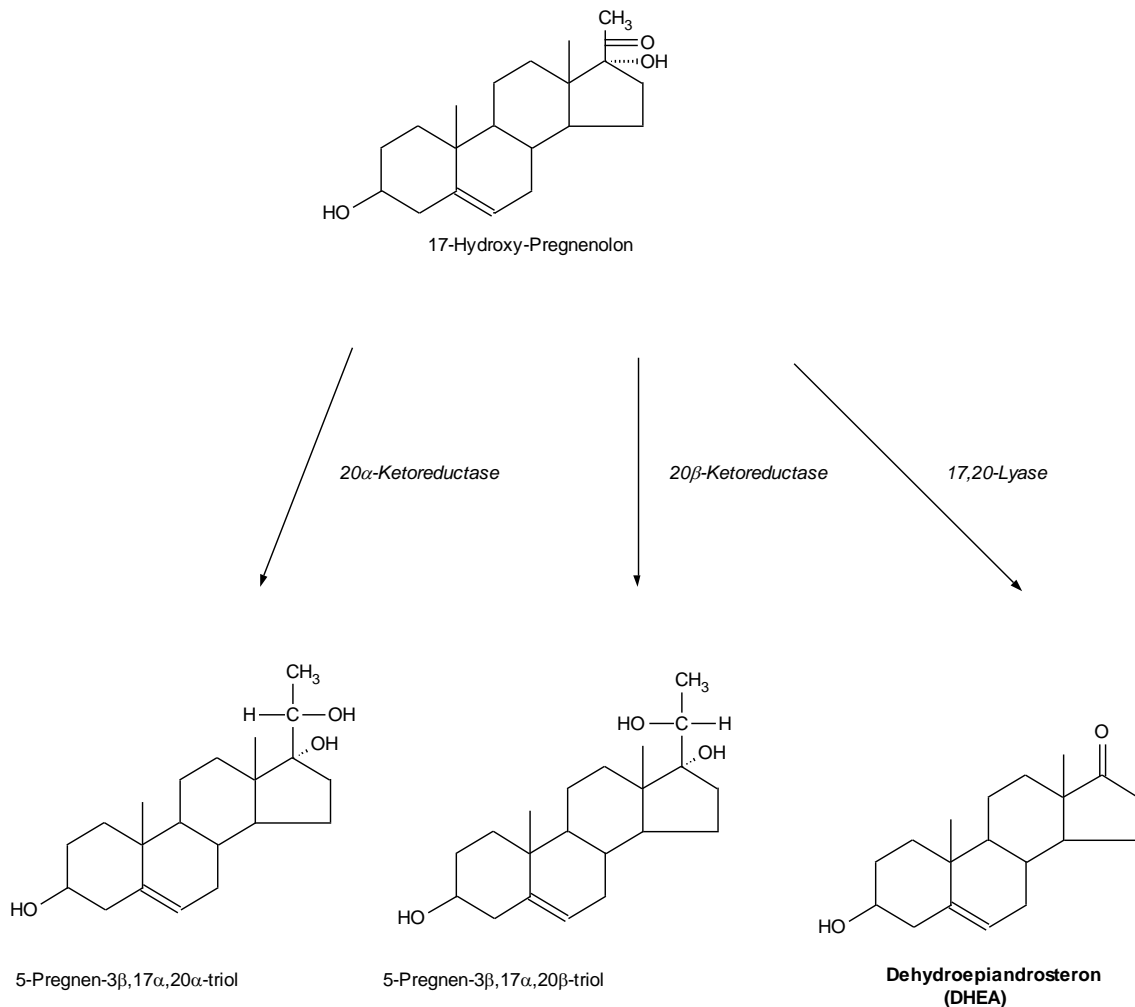
Hieraus entstehen durch die 20α- bzw. 20β-Ketoreduktase das 5-Pregnen-3β,17α,20α-triol (Pregnen-17α, P5T-17α) und sein Isomer 5-Pregnen-3β,17α,20β-triol. Durch die



Abspaltung der Seitenkette mit Hilfe der 17,20-Lyase geht das

**Dehydroepiandrosteron (DHEA)** hervor.

Die Abbauege des 17-Hydroxypregnenolons zeigt Abbildung 3.



**Abbildung 3:** Abbauege des 17-Hydroxypregnenolons

Nach Wörsinger 2001, S. 13

#### 1.4.3.2 DHEA, DHEA-S, 4-Androstendion, Testosteron

Die Abbauege dieser vier Elemente werden zusammen aufgeführt, da sie miteinander verknüpft sind (siehe Abbildung 4).

Das **DHEA** entsteht durch die 17,20-Lyase aus dem 17-Hydroxypregnenolon. Es steht über die DHEA-Sulfotransferase in dynamischem Gleichgewicht mit dem DHEA-Sulfat (DHEA-S), welches aber auch über Zwischenschritte aus dem Cholesterin-Sulfat gebildet werden kann. Die Plasma-Konzentration von DHEA-S ist ca. 500 mal höher als

von DHEA (Wudy et al. 2001). Die Ausscheidung von DHEA erfolgt fast vollständig als Sulfat (Gower und Honour 1984).

DHEA wird durch  $3\beta$ -HSD in Androstendion umgewandelt, aus welchem wiederum über Zwischenwege Testosteron hervorgehen kann.

Neben dem DHEA-Sulfat gehen aus dem DHEA noch weitere drei direkte Metaboliten hervor:

- Das **5-Androsten- $3\beta$ , $17\beta$ -diol** entsteht durch die 17-Ketoreduktase.
- Die 7-Hydroxylase wandelt DHEA in 5-Androsten- $3\beta$ , $7\alpha$ -diol-17-on um.
- Beide Enzyme zusammen können DHEA in 5-Androsten- $3\beta$ , $7\alpha$ - $17\beta$ -triol überführen.

Von diesen zu unterscheiden sind die DHEA-Sulfat Metaboliten:

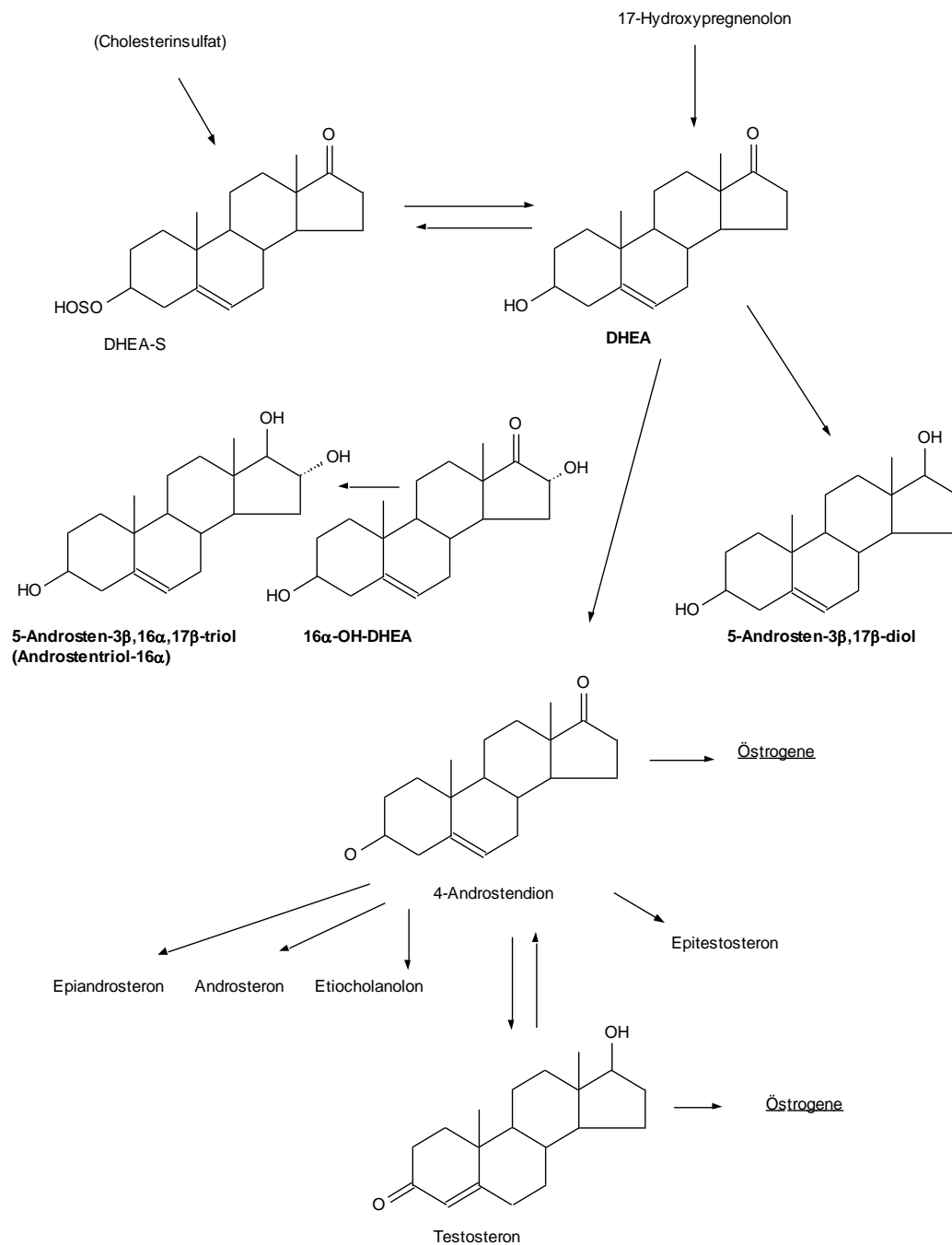
- Die  $16\alpha$ -Hydroxylase bildet aus DHEA-Sulfat  **$16\alpha$ -Hydroxy-DHEA ( $16\alpha$ OH-DHEA)**.
- Dieses kann durch die 17-Ketoreduktase in **5-Androsten- $3\beta$ , $16\alpha$ , $17\beta$ -triol (A5T- $16\alpha$ )** metabolisiert werden.

In der vorliegenden Arbeit wird die Summe aus DHEA,  $16\alpha$ OH-DHEA und A5T- $16\alpha$  als DHEA und Metaboliten (**DHEA&M**) bezeichnet.

Das **4-Androstendion** entsteht aus der Reaktion der  $17,20$ -Lyase mit  $17\alpha$ -Hydroxyprogesteron, kann aber auch indirekt aus DHEA entstehen. Ein geringer Anteil wird durch die 17-Ketoreduktase in Epitestosteron und Testosteron umgewandelt. Noch geringere Anteile reagieren mit  $6\beta$ -Hydroxylase. Ferner kann 4-Androstendion durch Hydroxylierung am C19-Atom in die Östrogensynthese eingeschleust werden. Weiterhin reagiert auch die  $5\alpha$ - bzw.  $5\beta$ -Reduktase damit und überführt es in Androsteron, Etiocholanolon und Epiandrosteron, welche mit dem Urin ausgeschieden werden.

Das **Testosteron** kann zurück in 4-Androstendion überführt werden, welches dann, wie oben beschrieben, in die ausscheidbaren Androsteron, Etiocholanolon und Epiandrosteron umgewandelt wird. Diese drei Metaboliten können aber auch durch zusätzliche Reduktion an C17 in  $5\alpha$ -/ $5\beta$ -Androstan- $3\alpha/\beta$ , $17\beta$ -diole umgewandelt

werden. Durch Desoxygenierung an C17 entsteht das Androsta-4,16-dien-3-on. Erfolgt eine Reduktion an C5 und an der Ketogruppe an C3, geht daraus das  $5\alpha$ -Androstan-17 $\beta$ -ol-3-on hervor. Wie das 4-Androstendion kann auch das Testosteron durch Hydroxylierung an C19 in die Östrogensynthese eingeschleust werden.



**Abbildung 4:** Metabolismus von DHEA, DHEA-S, Androstendion und Testosteron  
 Modifiziert nach Wörsinger 2001, S. 19.

Neben DHEA&M wurden auch die Summe der sieben Hauptandrogenmetaboliten untersucht („große Summe“). Diese wird als **C19** bezeichnet und besteht aus der Summe folgender Metaboliten: Androsteron, Etiocholanolon, DHEA, 16 $\alpha$ -Hydroxy-DHEA, Androstendiol-17 $\alpha$ , Androstendiol-17 $\beta$  und Androstentriol-16 $\alpha$ .

### 1.4.3.3 Cortisol (F) und Cortison (E)

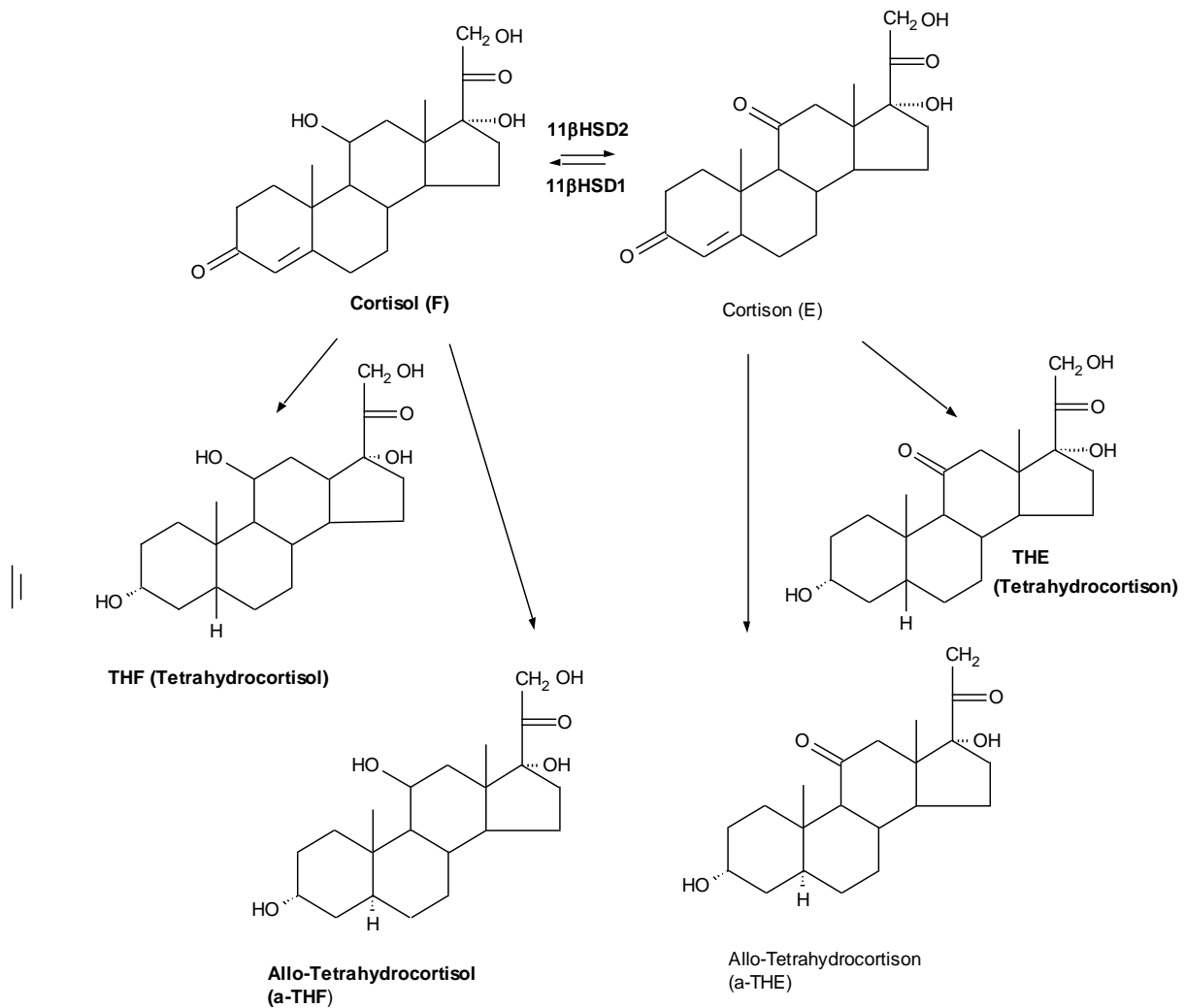
Das inaktive Cortison und das aktive Cortisol werden durch das Enzym **11 $\beta$ HSD** ineinander überführt. 11 $\beta$ HSD1 überführt Cortison in Cortisol. Dieses Enzym kommt in der Leber und im Fettgewebe vor. 11 $\beta$ HSD2 wandelt Cortisol in Cortison um. Es kommt vor allem in der Niere aber auch im Kolon und in der Speicheldrüse vor.

Durch Reduktion des C5-Atoms am A-Ring kann die 5 $\alpha$ - bzw. 5 $\beta$ -Reduktase Cortisol und Cortison jeweils in ein  $\alpha$ - bzw.  $\beta$ -Isomer überführen. Aus diesen gehen durch Hydroxylierung an C3 mit Hilfe der 3 $\alpha$ -Hydroxylase vier Metaboliten hervor. Dies sind **Tetrahydrocortison (THE)** und **Tetrahydrocortisol [THF]**, ( $\beta$ -Stellung von H in Position 5)] und deren Isomere **Allo-THE (a-THE)** und **Allo-THF [a-THF]**, ( $\alpha$ -Stellung von H in Position 5)]. Diesen Metabolisierungsweg gehen etwa 50% aller Corticosteroide. Das Verhältnis von THE/THF zu a-THE/a-THF beträgt normalerweise 3:1.

Abbildung 5 zeigt die Entstehung der o.g. Hauptmetaboliten aus Cortison und Cortisol.

In der vorliegenden Arbeit wird die Summe aus THE, THF und a-THF als Glucocorticoide (**GC**) bezeichnet.

11 $\beta$ HSD und die 5 $\alpha$ - bzw. 5 $\beta$ -Reduktase sind die wichtigsten Enzyme im Cortisolmetabolismus. Auf 11 $\beta$ HSD und 5 $\alpha$ -Reductase soll später näher eingegangen werden.



**Abbildung 5:** Die 4 Hauptmetaboliten von Cortisol und Cortison

Nach Wörsinger 2001, S. 21.

11βHSD = 11β-Hydroxysteroid-Dehydrogenase

Die Abspaltung der Seitenketten durch die 17,20-Lyase macht aus den vier Metaboliten 11-oxygenierte C19-17-Ketosteroide. So wird aus THE 11-Ketoetiocholanolon bzw. aus a-THE 11-Ketoandrosteron. Aus THF wird 11β-Hydroxyetiocholanolon und aus a-THF 11β-Hydroxyandrosteron.

THE bzw. THF und a-THE bzw. a-THF werden durch die 20α- bzw. β-HSD in wasserlöslichere Verbindungen umgewandelt und können so über den Urin ausgeschieden werden: Durch Reduktion der Keto-Gruppe an C20 entstehen aus THF bzw. a-THF α- bzw. β-Cortole, während THE bzw. a-THE in die 11-Keto-Produkte α-

bzw.  $\beta$ -Cortolone überführt werden (s. Abbildung 6). 30-40 % der Corticosteroide werden auf diese Weise als Cortole und Cortolone ausgeschieden.

Ein anderer Teil der Cortole und Cortolone wird durch Überführung der Alkoholgruppe an C21 in eine Aldehyd-, dann in eine Carboxylgruppe zu Cortol- und Cortolonsäuren. Die Cortol- und Cortolonsäuren machen etwa 5-15% der Urinmetaboliten des Cortisols aus.

Auch bei den Glucocorticoiden wurde die „große Summe“ aus den sieben Hauptmetaboliten untersucht. Sie wird als **C21** bezeichnet und besteht aus der Summe der folgenden Glucocorticoidmetaboliten: THE, THF,  $5\alpha$ -THF,  $\alpha$ -Cortol,  $\beta$ -Cortol,  $\alpha$ -Cortolon,  $\beta$ -Cortolon.

#### **1.4.4 $5\alpha$ -Reductase, $11\beta$ -Hydroxy-Steroiddehydrogenase und $3\beta$ -Hydroxy-Steroiddehydrogenase**

Von dem Enzym  $5\alpha$ -Reductase sind zwei Typen bekannt. Typ 1 wird codiert von dem sog. SRD5A1-Gen, während Typ 2 vom SRDA2-Gen codiert wird. Typ 1 lässt sich auf der Kopfhaut und anderen peripheren Geweben finden, während sich Typ 2 in männlichem reproduktivem Gewebe findet (Miller und Auchus 2011).  $5\alpha$ -Reductase Typ 2 ist die vorherrschende Form.

Die  $5\alpha$ -Reductasen spielen eine essentielle Rolle bei der Entwicklung der männlichen Sexualmerkmale und auch in der Androgenaktivität (Miller und Auchus 2011). So wird Testosteron von  $5\alpha$ -Reductase zu dem biologisch aktiveren Dihydrotestosteron (DHT) reduziert, welches eine 2-5 mal höhere Affinität zum Androgenrezeptor hat als Testosteron (Azzouni et al. 2011). DHT spielt eine wichtige Rolle beim Wachstum und der Differenzierung der Prostata und der männlichen Geschlechtsorgane sowie - mit Eintritt der Pubertät – bei der äußerlichen Virilisierung, d.h. dem Wachstum von Bart und Körperbehaarung (Azzouni et al. 2011).

Darüber hinaus reduzieren die  $5\alpha$ -Reductasen verschiedene Steroide während des Katabolismus. Neben Progesteron,  $17\text{OHP}$  und weiteren C21-Steroiden gehören auch Cortisol, Cortison, Corticosteron und ähnliche Verbindungen zu den Substraten dieser Enzyme.  $5\alpha$ - und  $5\beta$ -reduzierte Steroide können dann weiter metabolisiert und für die Exkretion im Urin konjugiert werden (Miller und Auchus 2011).

Die Corticosteroide Cortisol und Cortison werden durch die 11- $\beta$ -Hydroxy-Steroiddehydrogenase (11 $\beta$ -HSD) ineinander überführt. Zwei Isomere dieses Enzyms sind bekannt:

Die 11 $\beta$ -HSD 1 kommt v.a. in Leber, Testes, Lunge, Fettgewebe und proximalen Nierentubuli vor. Sie katalysiert sowohl die Oxidation vom aktiven Cortisol zu dem inaktiven Cortison als auch die Reduktion von Cortison zu Cortisol. Die letztere Reaktion kommt häufiger vor (Miller und Auchus 2011), wodurch die Glucocorticoid – Wirkung durch 11 $\beta$ HSD1 verstärkt wird.

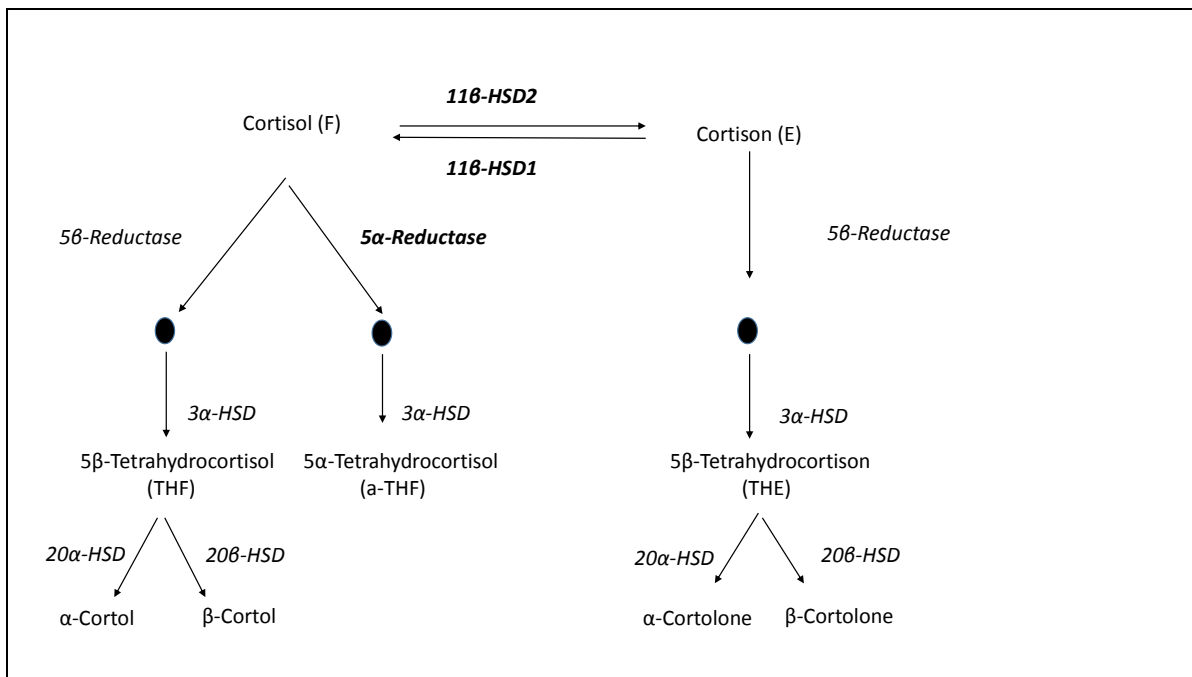
Die 11 $\beta$ -HSD 2 ist das inaktivierende Enzym und führt durch Oxidation zur Umwandlung von Cortisol in Cortison. Sie kommt in den Mineralocorticoid-Zielzellen von Niere, Colon und Speicheldrüsen sowie in der Plazenta vor. 11 $\beta$ -HSD 2 schützt den Mineralocorticoid-Rezeptor in Niere und Kolon vor exzessiver Cortisol-Wirkung. Ein Defekt dieses Enzyms führt zum übermäßigen Angebot an Cortisol, welches dann als potentes Mineralocorticoid wirkt und zum Blutdruckanstieg und zur Hypokaliämie führen kann. (Der 11 $\beta$ -HSD 2-Defekt ist beim Apparent-Mineralcorticoid-Exzess (AME)-Syndrom beschrieben).

Es ist bekannt, dass eine gesteigerte Guconeogenese zu Steroiddiabetes führen kann. Das Cushing-Syndrom, beispielsweise, das mit Glucoseintoleranz und Diabetes, Stammfettsucht und Hypertonie einhergeht, ist auf den Hypercortisolismus zurückzuführen.

Bei der Frage nach einer verminderten Steroidhormonproduktion bei Kindern und Jugendlichen mit ISS stellt sich nun die Frage, ob auch verminderte Aktivitäten der 11 $\beta$ -HSD und der 5 $\alpha$ -Reductase bei ISS vorliegen.

Abbildung 6 zeigt die Wirkungsweisen der 5 $\alpha$ -Reductase und der 11 $\beta$ -HSD im Cortisolmetabolismus.





**Abbildung 6:** Cortisolmetabolismus und die daran beteiligten Enzyme

Modifiziert nach Wudy et al. 2006.

Die beteiligten Enzyme stehen in kursiver Schrift. Die wichtigsten Enzyme **11 $\beta$ -HSD** und **5 $\alpha$ -Reductase** sind fett gedruckt. Die Punkte symbolisieren metabolische Zwischenprodukte.

Ein weiteres Enzym, das in der vorliegenden Arbeit bezüglich seiner Aktivität getestet wurde, ist die 3 $\beta$ -Hydroxy-Steroiddehydrogenase (3 $\beta$ -HSD).

Auch von diesem Enzym sind zwei Typen bekannt:

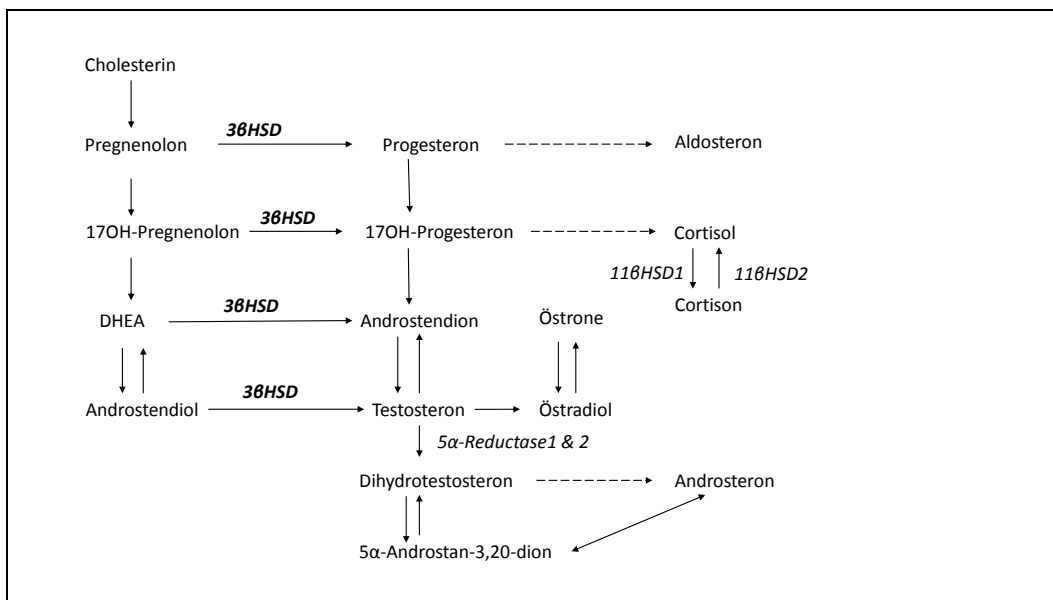
Das Typ1-Enzym ist in der Plazenta, im Brustgewebe, in der Leber, im Gehirn sowie in einigen weiteren Geweben aktiv. 3 $\beta$ -HSD Typ 1 (3 $\beta$ -HSD1) ist wichtig für die Progesteron-Synthese während der Schwangerschaft.

Das Typ2-Enzym (3 $\beta$ -HSD2) ist insbesondere in den Nieren und Gonaden aktiv.

3 $\beta$ -HSD konvertiert Pregnenolon zu Progesteron, 17 $\alpha$ -Hydroxypregnenolon zu 17 $\alpha$ -Hydroxyprogesteron (17-OHP), DHEA zu Androstendion sowie 17 $\beta$ -Hydroxyandrostendiol zu Testosteron (s. Abbildung 7).

Die 3 $\beta$ -HSD spielt eine wichtige Rolle in der Regulierung der adrenalen Synthese von DHEA-Sulfat (DHEA-S). Wenn sich mit Beginn der Adrenarche die Zona reticularis der NNR entwickelt (und damit die Produktion von DHEA-S steigt), fällt die Aktivität der 3 $\beta$ -HSD ab.

Ein Mangel an  $3\beta$ -HSD2 führt zu einer seltenen Form des adrenogenitalen Syndroms (AGS). Dieses geht mit einem Glucocorticoid- und Mineralcorticoid-Mangel einher und kann, wenn es nicht rechtzeitig in der frühen Kindheit erkannt wird, tödlich verlaufen. Aufgrund des  $3\beta$ -HSD-Mangels kommt es in der fetalen NNR zu einer übermäßigen Produktion von DHEA. Bei Mädchen wird ein geringer Anteil dieses DHEA durch extraadrenale  $3\beta$ -HSD1 zu Testosteron umgewandelt, welches phänotypisch zu einer Klitorishypertrophie und leichter Virilisierung führt. Bei den Jungen wird zwar auch ein Teil des DHEA in der NNR und in den Testes zu Androgenen metabolisiert, aber da die produzierte Androgen-Konzentration nicht ausreicht, kommt es bei ihnen phänotypisch zu einem kleinen Phallus und einer hochgradigen Hypospadie. (Miller und Auchus 2011).



**Abbildung 7:** Übersicht über den Steroidmetabolismus mit den Wirkungsweisen der Enzyme  $3\beta$ -HSD,  $5\alpha$ -Reductase und  $11\beta$ -HSD

*Modifiziert nach Miller und Auchus 2011.*

*Die gestrichelten Pfeile symbolisieren Zwischenreaktionen.*

Im Folgenden werden die Quotienten für die Enzymaktivitäten von 5 $\alpha$ -Reductase, 3 $\beta$ -HSD und 11 $\beta$ -HSD definiert:

$$5\alpha\text{Reductase} = \frac{a\text{THF}}{\text{THF}}$$

$$11\beta\text{HSD} = \frac{a\text{THF} + \text{THF}}{\text{THE}}$$

$$3\beta\text{HSD} = \frac{\text{DHEA} + 16\alpha\text{OHDHEA} + \text{Androstentriol}}{\text{Androsteron} + \text{Etiocholanolon}}$$

## 1.5 Urinmetaboliten

Zusammenfassend lässt sich Folgendes über die Urinmetaboliten der Steroidhormone sagen:

Der größte Teil der Metaboliten der Steroide und Androgene wird als Sulfat- oder Glucuronidverbindung oder als beides im Urin ausgeschieden. DHEA wird am Ende der Biotransformation fast vollständig als Sulfat ausgeschieden, Testosteron dagegen als Glucuronid. Die Androsterone und Etiocholanolone, die Haupt-17-Ketosteroide, kommen ebenfalls vorwiegend als Glucuronidverbindungen im Urin vor, während man 10% als Sulfatverbindungen vorfinden kann. Auch die Cortisolmetaboliten (THF, Cortole etc.), sowie Pregnandiol und Pregnantriol findet man hauptsächlich als Glucuronidverbindungen.

Die Clearance-Rate der Glucuronid-Verbindungen entspricht nahezu der glomerulären Filtrationsrate (GFR). (Gower 1984). Rund 90% der Radioaktivität gekennzeichneten C14-Cortisole wird 48 Stunden nach oraler oder i.v.-Gabe im Urin wiedergefunden. Die renale Clearance der Steroid-Sulfate entspricht dagegen nur 10% der GFR (Gower 1984).

Die Ausscheidung der Steroidmetaboliten über den Urin bildet eine optimale Voraussetzung für ihre Analyse über die Gaschromatographie-Massenspektrometrie (GC-MS). Auf die GC-MS wird im weiteren Verlauf dieser Arbeit näher eingegangen.

Tabelle 2 gibt einen Überblick über die wichtigsten Urinsteroidmetaboliten und ihre Herkunft.

**Tabelle 2:** Abkürzung und Herkunft der wichtigsten Urinsteroidmetaboliten

	<b>Abkürzung</b>	<b>Trivialname</b>	<b>Herkunft des Urinmetaboliten</b>
<b>1</b>	AN	Androsteron	DHEA, Androstendion, Testosteron
<b>2</b>	ET	Etiocholanolon	DHEA, Androstendion, Testosteron
<b>3</b>	DHEA	Dehydroepiandrosteron	DHEA-S
<b>4</b>	A5-3 $\beta$ ,17 $\beta$	5-Androsten-3 $\beta$ ,17 $\beta$ -diol	DHEA
<b>5</b>	11-O-An	11-Oxo-Androsteron	Cortisol, 11-Hydroxyandrostendion
<b>6</b>	11-OH-An	11-Hydroxyandrosteron	Cortisol, 11-Hydroxyandrostendion
<b>7</b>	17-OH-PO	17-Hydroxypregnenolon	17-Hydroxyprogesteron
<b>8</b>	11-OH-ET	11-Hydroxyetiocholanolon	Cortisol, 11-Hydroxyandrostendion
<b>9</b>	16 $\alpha$ -OH-DHEA	16 $\alpha$ -Hydroxy-DHEA	DHEA-S
<b>10</b>	PD	Pregnandiol	Progesteron
<b>11</b>	PT	Pregnantriol	17-Hydroxyprogesteron
<b>12</b>	P5D	Pregnendiol	Pregnenolon
<b>13</b>	A5T-16 $\alpha$	5-Androsten-3 $\beta$ ,16 $\alpha$ ,17 $\beta$ -triol	DHEA-S
<b>14</b>	THS	Tetrahydro-11-Desoxycortisol	11-Desoxycortisol
<b>15</b>	11-O-PT	11-Oxo-Pregnantriol	21-Desoxycortisol
<b>16</b>	P5T-17 $\alpha$	5-Pregnen-3 $\beta$ -17 $\alpha$ ,20 $\alpha$ -triol	17-Hydroxypregnenolon
<b>17</b>	THE	Tetrahydrocortison	Cortison
<b>18</b>	THA	Tetrahydro-11-dehydro-Corticosteron	Corticosteron
<b>19</b>	THB	Tetrahydrocorticosteron	Corticosteron
<b>20</b>	aTHB	5 $\alpha$ -Tetrahydrocorticosteron	Corticosteron
<b>21</b>	THF	Tetrahydrocortisol	Cortisol
<b>22</b>	aTHF	5 $\alpha$ -Tetrahydrocortisol	Cortisol
<b>23</b>	$\alpha$ -CL	$\alpha$ -Cortolon	Cortison
<b>24</b>	$\beta$ -CL	$\beta$ -Cortolon	Cortison
<b>25</b>	$\alpha$ -C	$\alpha$ -Cortol	Cortisol
<b>26</b>	F	Cortisol	Cortisol
<b>27</b>	6 $\beta$ -OH-F	6 $\beta$ -Hydrocortisol	Cortisol
<b>28</b>	20 $\alpha$ -DHF	20 $\alpha$ -Dihydrocortisol	Cortisol

## 1.6 Gaschromatographie-Massenspektrometrie

Bei der Gaschromatographie-Massenspektrometrie (GC-MS) handelt es sich um ein Verfahren zur Bestimmung von Hormonen und ihren Metaboliten. Aufgrund des hohen Aufwands ist sie weltweit nur in wenigen Steroidlabors verfügbar. Sie bietet den Vorteil, dass die Bestimmung verschiedener Steroid-Metaboliten simultan erfolgen kann (Wudy und Hartmann 2011). Zudem handelt es sich um ein nicht-invasives Verfahren, das eine unkomplizierte Probengewinnung ermöglicht (Wudy et al. 2001). Mit der Massenspektrometrie bietet sich zur Zeit die spezifischste qualitative und quantitative Methode zur Steroidhormonanalyse. (Wudy und Hartmann 2011). Die GC-MS erlaubt nicht nur die Bestimmung der Hormon-Exkretionsraten in 24h-Sammelurinen. Mit Hilfe dieser Methode kann auch die Diagnose oder Therapieüberwachung von Erkrankungen erfolgen, die mit einer Steroidhormon-Störung einhergehen. Besonders geeignet ist diese Methode zur Diagnostik von Steroidhormonstörungen bei Säuglingen und Kleinkindern. GC-MS wird auch zur Erstdiagnose bei unklaren Fällen vorgezogen, so dass unkritische und teure molekulardiagnostische Tests vermieden werden können. (Wudy und Hartmann 2004). Die GC-MS hat sich als zuverlässige Verfahrensweise erwiesen, um Steroidhormon-Störungen sowohl bei Kindern als auch Erwachsenen zu analysieren (Wudy und Hartmann 2011).

Die Bedeutung der beiden wesentlichen Schritte liegt in der Trennung der Steroide (Gaschromatographie) und in der Bestimmung der Metaboliten (Massenspektrometrie).

Die Aufarbeitung des Harns besteht aus folgenden Schritten:

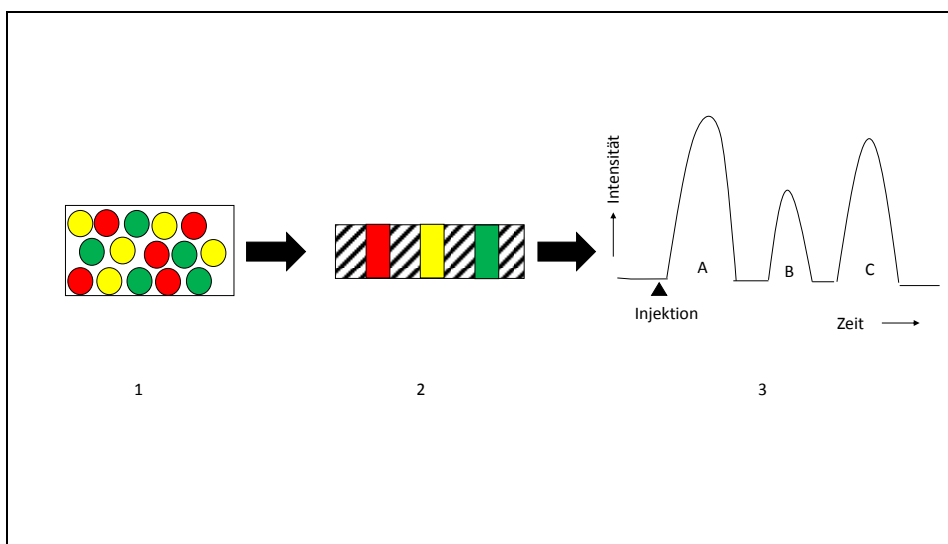
- Festphasenextraktion
- Enzymatische Hydrolyse
- Erneute Extraktion
- Derivatisierung zu Methyloxim-Trimethylsilyl-Äthern.

### 1.6.1 Gaschromatographie

Die Gaschromatographie dient der Trennung eines Substanzgemisches mit Hilfe einer sogenannten mobilen Phase, auch „carrier“ oder Trägersubstanz genannt, die das Analysegemisch mitführt und über eine sogenannte stationäre Phase läuft. Diese wiederum beschichtet die Innenseite einer Säule oder Kapillare. Bei der Gaschromatographie besteht das Carriergas meist aus dem Edelgas Helium (He). Nachdem die getrennten Substanzen hintereinander die Kapillare verlassen haben, werden sie durch einen Detektor, z.B. einem Flammenionisationsdetektor, mit Hilfe der Auswerteinheit im Gaschromatogramm angezeigt. Hierzu werden die Intensitäten über der Zeit abgebildet und als Peaks angezeigt. Es kann jedoch vorkommen, dass mehrere Substanzen in einem Peak vorhanden sind. Das einzige Identifikationskriterium einer Substanz im Chromatogramm ist die Retentionszeit, d.h. die Zeit von der Probenaufgabe bis zum Peakmaximum. Deshalb ist es sinnvoll, zur weiteren Identifizierung und Quantifizierung die Gaschromatographie mit der Massenspektrometrie zu koppeln (Wudy 1999).

Von allen Trennungstechniken hat die Gaschromatographie das höchste Potential für die Trennung von Steroiden (Wudy und Hartmann 2011).

Abbildung 8 stellt schematisch das Prinzip des gaschromatographischen Analysenvorgangs dar.



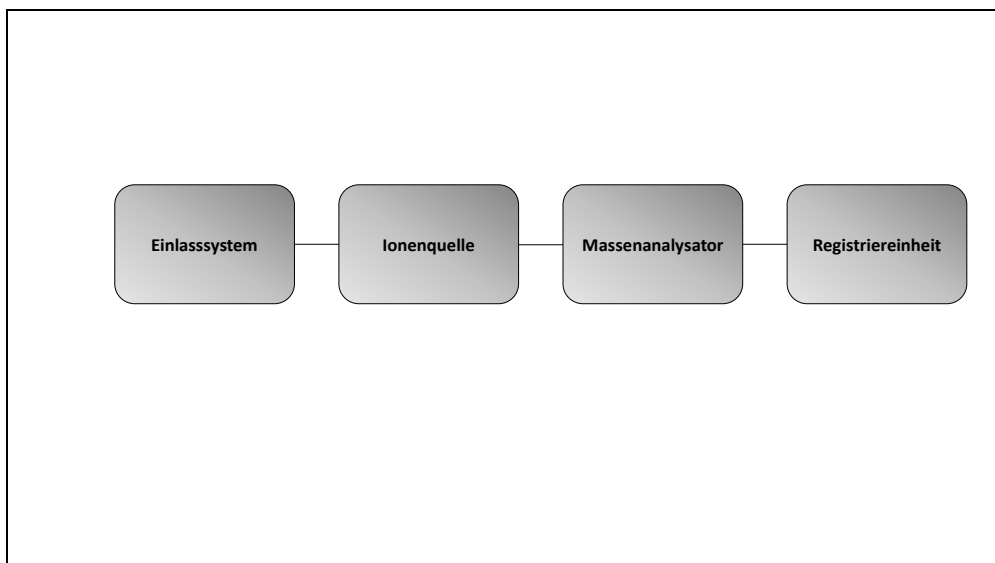
**Abbildung 8:** Prinzip des gaschromatographischen Analysenvorgangs

*Nach Wudy 1999. Das Stoffgemisch (im Lösungsmittel A gelöste Stoffe B und C) wird verdampft (1). In der Säule (Kapillare) erfolgt die Auftrennung des Stoffgemisches (2). Am Säulenausgang erfolgt die Detektion und über die Auswerteinheit die Aufzeichnung in einem Gaschromatogramm (3).*

### 1.6.2 Massenspektrometrie

In einem Massenspektrometer werden Moleküle (in diesem Fall die Moleküle der vorher durch Gaschromatographie aufgetrennten Substanzen) in gasförmige Ionen, d.h. geladene Teilchen, überführt. In der GC-MS geschieht dies meist mit Hilfe der Elektronenstoßionisation.

Die Ionisierung erfolgt in der sogenannten Ionenquelle des Massenspektrometers. Anschließend werden die entstandenen Fragmentionen in einem Massenanalysator nach ihrem Masse-Ladungs-Verhältnis und ihrer Intensität sortiert. In der Registriereinheit wird der Ionenstrom schließlich durch einen „electron-multiplier“-Detektor in elektrische Signale umgewandelt und die relativen Intensitäten der Ionen in einem Massenspektrum aufgezeichnet. Damit erfolgt die Identifizierung der einzelnen Steroidhormone. Die Massenspektrometrie bietet zur Zeit die höchste Spezifität in der Analyse von Steroidhormonmetaboliten (Wudy und Hartmann 2011). In Abbildung 9 werden schematisch die funktionellen Einheiten eines Massenspektrometers dargestellt.



**Abbildung 9:** Funktionelle Komponenten eines Massenspektrometers

*Nach Wudy 1999.  
Erläuterung im Text.*

## 2 ISS-Probanden, Kontrollgruppe und Methodik

### 2.1 ISS-Probanden

#### 2.1.1 Ein- und Ausschlusskriterien und Beschreibung

Bei den in dieser Arbeit untersuchten ISS-Probanden handelt es sich um Jungen und Mädchen zwischen 3 und 18 Jahren, die zwischen 2001 und 2003 in der endokrinologischen Ambulanz der Giessener Universitäts-Kinderklinik vorgestellt wurden. Sie wurden aus einem Kollektiv von Kindern und Jugendlichen mit ISS herausgesucht, die Gegenstand einer Studie von Wudy et al. 2005 waren („Children with idiopathic short stature are poor eaters and have decreased body mass index.“).

Für die Auswahl der Probanden galten folgende Ein- und Ausschlusskriterien:

Die Größe sollte  $< 5$ . Perzentile liegen. Bei Geschwisterpaaren sollte die Größe des einen Kindes  $< 5$ . und die des anderen  $< 15$ . Perzentile liegen. Es wurden nur Kaukasier in die Arbeit aufgenommen. Vorausgesetzt wurden ebenfalls eine unauffällige Schwangerschaft sowie ein Geburtsgewicht  $> 3$ . Perzentile.

Konsanguinität zwischen den Eltern sowie Dysmorphien bei den Patienten wurden ausgeschlossen. Chronische Erkrankungen wie Zöliakie, Leber- und Nierenerkrankungen, eine Hypothyreose und auch ein Wachstumshormonmangel wurden durch Bestimmung der jeweiligen Laborparameter (Endomysium-Ak, Transaminasen, Kreatinin, fT4, TSH, IGF, IGFBP sowie BSG, CRP und Blutbild) ebenfalls ausgeschlossen.

Die Körpergröße wurde mit dem Ulmer-Stadiometer unter einer Abweichung von 0,1 cm gemessen. Die Bestimmung des Gewichts erfolgte durch die Söhnle Digital-Waage Typ 7723 (Abweichung um 0,1 kg). Die Pubertätsstadien wurden nach Tanner bestimmt. Das Knochenalter wurde anhand einer Röntgen-Aufnahme der linken Hand nach Greulich & Pyle ermittelt.

In der Arbeit sind insgesamt 163 KEV-Probanden erfasst. Eine Charakterisierung dieses Kollektivs findet sich in den folgenden Tabellen:



**Tabelle 3:** Geschlechts- und Altersverteilung der ISS-Probanden

Alter (Jahre)	Jungen	Mädchen	gesamt
3-4	2	4	6
5-6	11	3	14
7-8	11	4	15
9-10	25	10	35
11-12	13	12	25
13-14	20	11	31
15-16	15	14	29
17-18	3	5	8
<b>gesamt</b>	<b>100</b>	<b>63</b>	<b>163</b>

**Tabelle 4:** Anthropometrische Daten der ISS- Jungen

Alter (Jahre)	Größe (cm)	Gewicht (kg)	BMI (kg/m <sup>2</sup> )	KO (m <sup>2</sup> )	Knochenalter (Jahre, Monate)	Tanner-Stadium P
<b>3-4</b>	99,7 ± 0,42	15,3 ± 0,14	15,4 ± 0,27	0,65 ± 0,00	3,3 ± 0,35	1
<b>5-6</b>	108,7 ± 3,78	17,8 ± 1,62	15,0 ± 1,01	0,73 ± 0,04	4,2 ± 1,06	1
<b>7-8</b>	118,3 ± 2,24	21,5 ± 1,18	15,4 ± 0,81	0,84 ± 0,03	6,6 ± 1,14	1
<b>9-10</b>	129,7 ± 5,61	27,1 ± 3,44	16,1 ± 1,39	0,99 ± 0,08	8,3 ± 1,43	1
<b>11-12</b>	138,2 ± 4,69	32,2 ± 4,18	16,8 ± 1,35	1,11 ± 0,09	10,7 ± 1,48	1
<b>13-14</b>	147,6 ± 7,26	42,5 ± 8,12	19,4 ± 2,82	1,32 ± 0,15	12,5 ± 1,05	2
<b>15-16</b>	159,2 ± 6,45	50,6 ± 8,11	19,9 ± 2,21	1,49 ± 0,14	14,6 ± 1,20	3
<b>17-18</b>	166,6 ± 0,84	66,6 ± 14,07	24,0 ± 5,24	1,75 ± 0,18	17,7 ± 1,15	5

BMI= Body Mass Index, KO= Körperoberfläche

Das Tanner-Stadium bezieht sich auf die Pubesbehaarung (P).

Angegeben sind jeweils Mittelwert und Standardabweichung. Bei der Pubesbehaarung wurde der Median bestimmt.

**Tabelle 5:** Anthropometrische Daten der ISS-Mädchen

Alter (Jahre)	Größe (cm)	Gewicht (kg)	BMI (kg/m <sup>2</sup> )	KO (m <sup>2</sup> )	Knochenalter (Jahre, Monate)	Tanner-Stadium P
<b>3-4</b>	96,3 ± 1,67	13,4 ± 1,00	14,5 ± 0,82	0,60 ± 0,03	2,9 ± 1,10	1
<b>5-6</b>	100,2 ± 2,10	14,4 ± 0,42	14,4 ± 0,24	0,63 ± 0,02	3,3 ± 1,53	1
<b>7-8</b>	116,5 ± 4,30	20,9 ± 1,95	15,4 ± 0,46	0,82 ± 0,05	6,7 ± 0,79	1
<b>9-10</b>	128,5 ± 5,01	26,1 ± 2,56	15,8 ± 1,65	0,96 ± 0,06	8,5 ± 1,06	1
<b>11-12</b>	136,6 ± 5,79	32,5 ± 5,31	17,3 ± 1,77	1,11 ± 0,11	10,5 ± 1,51	1
<b>13-14</b>	148,7 ± 6,00	42,9 ± 7,9	19,3 ± 2,70	1,33 ± 0,14	12,9 ± 1,60	2
<b>15-16</b>	153,1 ± 4,21	46,2 ± 6,20	19,8 ± 2,56	1,40 ± 0,10	15,1 ± 1,10	3
<b>17-18</b>	156,3 ± 2,15	47,7 ± 3,40	19,5 ± 1,28	1,44 ± 0,06	16,4 ± 0,55	5

BMI= Body Mass Index, KO= Körperoberfläche.

Das Tanner-Stadium bezieht sich auf die Pubesbehaarung (P).

Angegeben sind jeweils Mittelwert und Standardabweichung. Bei der Pubesbehaarung wurde der Median bestimmt.

## 2.2 Kontrollgruppe

Bei der Kontrollgruppe handelt es sich um Probanden, die im Rahmen der DONALD (Dortmund Nutritional and Anthropometric Longitudinally Designed) – Studie untersucht wurden. (Bei der DONALD-Studie handelt es sich um eine offene Kohorten-Studie, bei der an den Probanden vom Säuglings- bis ins Erwachsenenalter in regelmäßigen Abständen detaillierte Daten zum Ernährungsverhalten, Wachstum, Entwicklung, Stoffwechsel und Gesundheitsstatus erhoben werden).

(<http://www.ernaehrungsepidemiologie.uni-bonn.de/forschung/donald-1>).

Die Kontrollgruppe besteht aus 400 gesunden Kindern und Adoleszenten (200 Jungen und 200 Mädchen zwischen 3 und 18 Jahren) einer prospektiven Studie, an denen der Zusammenhang zwischen Ernährung, Wachstum, metabolischen und endokrinologischen Veränderungen während der Kindheit und Adoleszenz untersucht wurde.

Anhand dieses Kollektivs untersuchten Remer und Wudy 2005 die Ausscheidung verschiedener Steroidhormonmetaboliten während der Wachstumsphase bei Gesunden. Dazu wurden, beginnend mit 3–4 Jahren, acht Altersgruppen mit je 50 zufällig zugeordneten Kindern (jeweils 25 Jungen und 25 Mädchen pro Gruppe) zusammengestellt. Für jede Altersgruppe wurden 24h-Sammelurine massenspektrometrisch auf ihren Gehalt an DHEA, DHEA&M (16 $\alpha$ OH-DHEA und 3 $\beta$ ,16 $\alpha$ ,17 $\beta$ -Androstentriol), ADIOL (5-Androsten-3 $\beta$ ,17 $\beta$ -diol) sowie auf C19 (Summe der Haupturinmetaboliten der Androgene) untersucht. Die Ergebnisse dieser Studie können als Referenzwerte bei der Untersuchung von Steroidhormonstörungen angewendet werden, was in der vorliegenden Arbeit bei der Berechnung des Standard Deviation Scores (SDS) getan wurde.

(*Kontrolle* und *Normalkollektiv* werden in der vorliegenden Arbeit als Synonym verwendet).

Eine Übersicht der Kontrollgruppe ist in den nachfolgenden Tabellen gegeben:

**Tabelle 6:** Geschlechts- und Altersverteilung der Kontrollgruppe

<b>Alter (Jahre)</b>	<b>Jungen</b>	<b>Mädchen</b>	<b>gesamt</b>
3-4	25	25	<b>50</b>
5-6	25	25	<b>50</b>
7-8	25	25	<b>50</b>
9-10	25	25	<b>50</b>
11-12	25	25	<b>50</b>
13-14	25	25	<b>50</b>
15-16	25	25	<b>50</b>
17-18	25	25	<b>50</b>
<b>gesamt</b>	<b>200</b>	<b>200</b>	<b>400</b>

**Tabelle 7:** Anthropometrische Daten der Kontrollgruppe – Jungen

<b>Alter (Jahre)</b>	<b>Größe (cm)</b>	<b>Gewicht (kg)</b>	<b>BMI (kg/m<sup>2</sup>)</b>	<b>KO (m<sup>2</sup>)</b>
<b>3-4</b>	104,4 ± 5,06	16,9 ± 2,01	15,5 ± 1,12	0,70 ± 0,06
<b>5-6</b>	117,7 ± 5,41	21,2 ± 2,72	15,2 ± 1,06	0,83 ± 0,07
<b>7-8</b>	127,5 ± 6,85	26,8 ± 5,38	16,3 ± 1,77	0,97 ± 0,12
<b>9-10</b>	142,1 ± 7,86	35,2 ± 6,33	17,3 ± 2,00	1,18 ± 0,13
<b>11-12</b>	154,1 ± 8,43	45,1 ± 9,91	18,9 ± 3,15	1,39 ± 0,17
<b>13-14</b>	163,4 ± 8,44	53,1 ± 8,74	19,8 ± 1,81	1,56 ± 0,16
<b>15-16</b>	174,7 ± 8,26	62,3 ± 8,71	20,4 ± 2,19	1,75 ± 0,15
<b>17-18</b>	180,2 ± 6,26	73,1 ± 10,3	22,5 ± 3,04	1,92 ± 0,149

*BMI= Body Mass Index, KO= Körperoberfläche.*

*Angegeben sind jeweils Mittelwert und Standardabweichung.*

**Tabelle 8:** Anthropometrische Daten der Kontrollgruppe –Mädchen

<b>Alter (Jahre)</b>	<b>Größe (cm)</b>	<b>Gewicht (kg)</b>	<b>BMI (kg/m<sup>2</sup>)</b>	<b>KO (m<sup>2</sup>)</b>
<b>3-4</b>	102,2 ± 5,69	16,7 ± 2,60	15,9 ± 1,59	0,68 ± 0,07
<b>5-6</b>	114,2 ± 4,96	20,3 ± 2,74	15,5 ± 1,44	0,80 ± 0,07
<b>7-8</b>	126,9 ± 5,34	25,6 ± 5,07	15,8 ± 1,93	0,95 ± 0,10
<b>9-10</b>	139,3 ± 7,61	33,1 ± 6,57	16,9 ± 2,28	1,14 ± 0,13
<b>11-12</b>	151,9 ± 6,96	43,6 ± 10,6	18,7 ± 3,29	1,36 ± 0,18
<b>13-14</b>	161,9 ± 6,15	51,5 ± 9,30	19,6 ± 3,35	1,53 ± 0,14
<b>15-16</b>	167,3 ± 7,03	59,8 ± 11,3	21,3 ± 2,75	1,67 ± 0,17
<b>17-18</b>	170,3 ± 7,60	62,4 ± 10,1	21,4 ± 2,82	1,72 ± 0,16

*BMI= Body Mass Index, KO= Körperoberfläche.*

*Angegeben sind jeweils Mittelwert und Standardabweichung.*

### 2.3 Vergleich der ISS-Probanden mit den Kontrollen bezüglich der anthropometrischen Daten

Es war zunächst interessant herauszufinden, ob und bezüglich welcher anthropometrischer Daten sich die ISS-Gruppe und die Kontrollgruppe sich voneinander unterschieden. Dazu wurde der Einstichproben-t-Test durchgeführt. Die Ergebnisse werden in den beiden folgenden Tabellen dargestellt. Angegeben ist jeweils das Signifikanzniveau p. Für  $p < 0,05$  besteht ein signifikanter Unterschied zwischen ISS- und Kontrollgruppe.

**Tabelle 9:** p-Werte des Einstichproben-t-Tests (Jungen)

<b>Alter (Jahre)</b>	<b>Größe</b>	<b>Gewicht</b>	<b>BMI</b>	<b>KO</b>
<b>3-4</b>	0,041	0,040	0,679	0,015
<b>5-6</b>	<0,001	<0,001	0,562	<0,001
<b>7-8</b>	<0,001	<0,001	<0,004	<0,001
<b>9-10</b>	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
<b>11-12</b>	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
<b>13-14</b>	<0,001	<0,001	0,514	<0,001
<b>15-16</b>	<0,001	<0,001	0,369	<0,001
<b>17-18</b>	0,001	0,509	0,664	0,243

Bei Größe, Gewicht und Körperoberfläche hatten die Jungen der Kontrollgruppe durchgehend größere Werte als die Jungen der ISS-Gruppe. Die nicht signifikanten Ergebnisse in der ältesten Gruppe rühren von der geringen Fallzahl (n=3) her. Beim BMI waren die Unterschiede nur in 3 Altersgruppen signifikant.

**Tabelle 10:** p-Werte des Einstichproben-t-Tests (Mädchen)

<b>Alter (Jahre)</b>	<b>Größe</b>	<b>Gewicht</b>	<b>BMI</b>	<b>KO</b>
<b>3-4</b>	0,006	0,007	0,039	0,009
<b>5-6</b>	0,007	0,002	0,015	0,003
<b>7-8</b>	0,017	0,017	0,172	0,018
<b>9-10</b>	<0,001	<0,001	0,073	<0,001
<b>11-12</b>	<0,001	<0,001	0,021	<0,001
<b>13-14</b>	<0,001	0,005	0,731	0,001
<b>15-16</b>	<0,001	<0,001	0,058	<0,001
<b>17-18</b>	<0,001	0,001	0,031	<0,001

Bei Größe, Gewicht und Körperoberfläche hatten die Mädchen der Kontrollgruppe durchgehend größere Werte als die Mädchen der ISS-Gruppe.

Beim BMI waren die Unterschiede nur in 4 Altersgruppen signifikant (s. Tabelle 10).

## 2.4 Material und Methoden

### 2.4.1 Urinsammlung

Die Hormonexkretionsraten wurden aus den 24h-Sammelurinen der Probanden bestimmt. Die Sammlung des Urins erfolgte zu Hause durch die Probanden selbst bzw. durch die Eltern. Sie wurden instruiert die erste Morgenportion jeweils zu verwerfen und den Urin in einem sauberen Gefäß kühl gelagert zu sammeln. Die Sammelgefäße wurden dann in das Steroidlabor der Kinderklinik Gießen gebracht, wo die Sammelmenge bestimmt und anschließend die Proben in verschließbaren und mit Patientencodes versehenen Röhrchen bis zur Analyse mittels Gaschromatographie-Massenspektrometrie im Gefrierfach tiefgefroren (-12 °C bis -18 °C) gelagert wurden.

Bei einigen Probanden erfolgte die Bestimmung der Sammelmenge auswärts und die Proben wurden in den Röhrchen mit Angabe der jeweiligen Sammelmenge per Post an das Steroidlabor geschickt.

#### **2.4.2 Methode der gaschromatographisch-massenspektrometrischen Harnsteroidhormonanalyse**

Die Aufarbeitung des Harns erfolgte nach der im Steroidhormonlabor der Gießener Universitätskinderklinik etablierten Methode durch dessen Mitarbeiter. Die wichtigsten Schritte seien im Folgenden kurz beschrieben:

Mittels Festphasenextraktion wurde ein Aliquot (5ml) eines 24h-Sammelurins extrahiert und anschließend der Extrakt getrocknet. Danach erfolgte die enzymatische Hydrolyse. Die nun freien Steroide wurden mittels erneuter Festphasenextraktion reextrahiert. Dann erfolgte die Umwandlung zu Methylim-Trimethylsilyl-Äthern. Danach schloss sich die GC-MS Analyse an.

### **2.5 Verwendete Software**

Die Erfassung der Daten erfolgte mit dem Microsoft Excel Programm für Windows 2010.

Für die statistische Auswertung und graphischen Darstellungen mittels Boxplots und Fehlerbalken wurde das Programm R Version 3.1.0 (April 2014) verwendet.

Die chemischen Strukturen wurden mit dem Programm Chemograph Plus 6.4 erstellt; die Abbildungen und Zeichnungen mit dem Programm Power Point 2013.

### **2.6 Berechnungen und statistische Analyse**

Die statistische Beratung wurde begonnen von Herrn Wolfgang Pabst vom Institut für Medizinische Informatik (Arbeitsgruppe Statistik) der Universität Gießen. Die weitere

statistische Beratung erfolgte durch Frau Dr. Monika Kriner, Statistikerin, Friedenstr. 11, 82178 Puchheim ([www.kriner-statistik.de](http://www.kriner-statistik.de)).

Die Datenanalyse hat explorativen Charakter. Kriterien für die Ablehnung bzw. Beibehaltung der einzelnen Hypothesen ist die berechnete Irrtumswahrscheinlichkeit „p“ (Signifikanzniveau  $p < 0,05$ ), die im Ergebnisteil jeweils angegeben wird.

### 2.6.1 Berechnung der Körperoberfläche

Die Körperoberfläche (KO) wurde nach der Formel von Morsteller aus der Körpergröße und dem Körpergewicht ermittelt:

$$KO [m^2] = \text{Quadratwurzel} ((\text{Gewicht [kg]} \times \text{Größe [cm]}) / 3600)$$

### 2.6.2 Berechnung des SDS

Zum Vergleich der Messergebnisse von ISS-Probanden und Normalkollektiv wurde der Standard Deviation Score (SDS) berechnet. Der SDS ist eine standardisierte Normabweichung, die angibt, in welchem Umfang ein individueller auxologischer Parameter vom Mittelwert des jeweiligen Alters abweicht.

Die Formel für den SDS lautet:

$$SDS = \frac{x_i - \bar{x}}{SD}$$

Erläuterung am Beispiel der Hormonkonzentration:

$x_i$  = Hormonkonzentration eines ISS-Probanden eines bestimmten Alters

$\bar{x}$  = Mittelwert für die Hormonkonzentration des entsprechenden Alters im Normalkollektiv

$SD$  = Standardabweichung für die Hormonkonzentration des entsprechenden Alters im Normalkollektiv

Ist der SDS-Wert positiv, so liegt er über dem Mittelwert des Normalkollektivs, ist er negativ, so liegt er darunter. Ein SDS-Wert von Null bedeutet, es liegt keine Abweichung vom Mittelwert vor.

### **2.6.3 Einstichproben-t-Test**

Unterschiede zwischen den ISS-Probanden und der Kontrollgruppe wurden mit Hilfe des Einstichproben-t-Tests geprüft.

### **2.6.4 Regressionsanalyse**

Um herauszufinden, ob ein Zusammenhang zwischen Alter, BMI und Hormonexkretion bzw. Enzymaktivität bestand, wurde eine Regressionsanalyse durchgeführt.

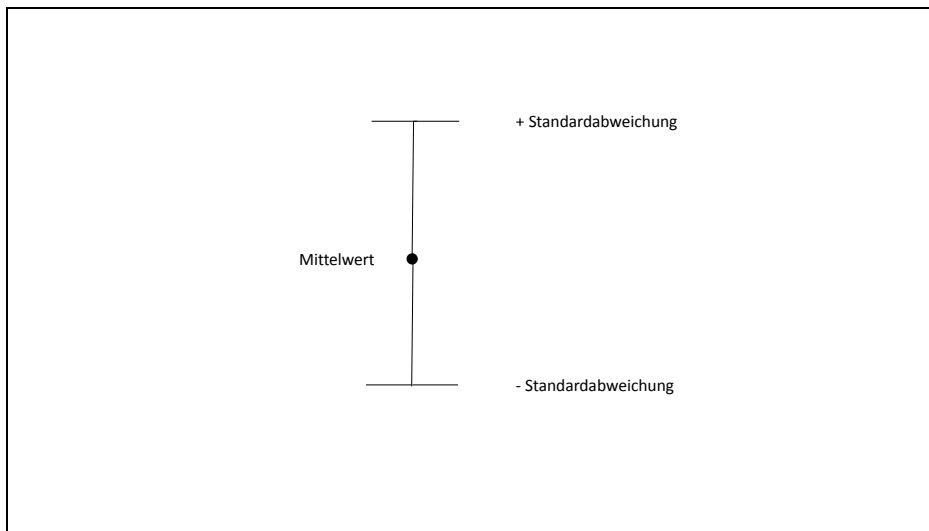
In der Übersichtstabelle zur Regressionsanalyse wurden folgende Angaben gemacht:

- $R^2$  = Bestimmtheitsmaß: drückt aus, wie gut die Regressionsgerade den Zusammenhang zwischen unabhängiger und abhängiger Variabel wiedergibt. Je näher  $R^2$  an 1 liegt, desto stärker ist der lineare Zusammenhang.
- $\beta$  = Steigung der Geraden: durchschnittliche Veränderung der abhängigen Variable pro Zunahme einer Einheit der unabhängigen Variabel
- p = Signifikanz

## **2.7 Graphische Darstellung**

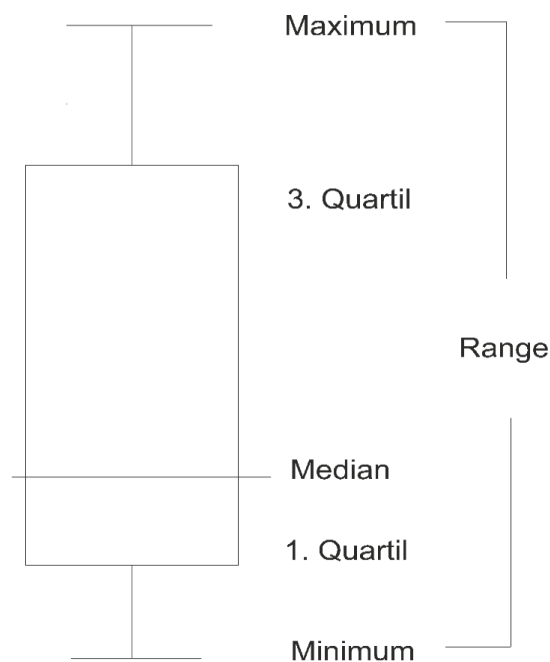
Mittels Fehlerbalken wurden die mittleren Tagesexkretionswerte und Standardabweichungen für die Hormone sowie die Aktivitätsindices der Enzyme dargestellt.





**Abbildung 10:** Fehlerbalken

Mittels Boxplots wurden die errechneten SDS-Mediane der ISS-Probanden dargestellt.



**Abbildung 11:** Box-and-Whisker-Plot

*Median:* Der Median teilt die Messergebnisse in zwei Hälften. In der einen Hälfte sind die Messwerte höchstens so groß wie der Median, in der anderen mindestens so groß wie der Median.

*1. und 3. Quartil:* Das 1. Quartil,  $Q1$  (3. Quartil,  $Q3$ ) besagt, dass 25% (75%) der Messergebnisse unterhalb und 75% (25%) oberhalb der Werte von  $Q1$  ( $Q3$ ) liegen.

*Minimum, Maximum:* Sie geben den größten bzw. den kleinsten Stichprobenwert wieder. Zusammen geben sie den Range (die Spannweite) der Messwerte an.

### **3 Darstellung der Ergebnisse**

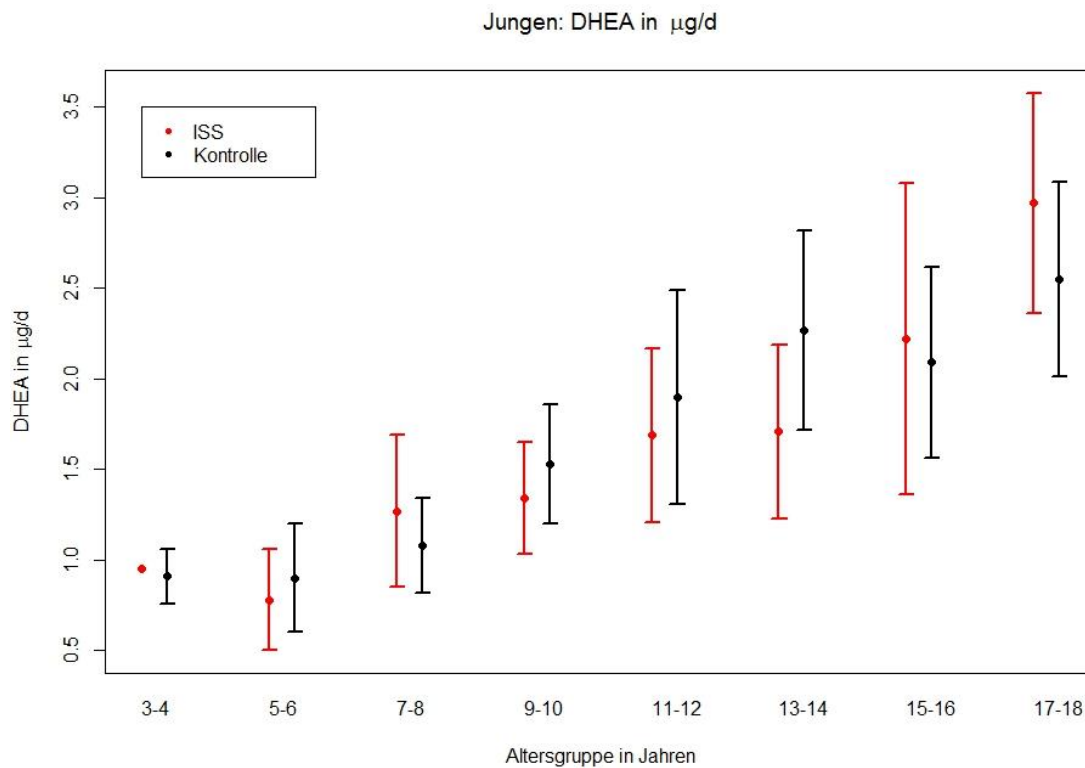
#### **3.1 Hormonexkretionsraten und Enzymaktivitäten der Probanden im Vergleich zum Normalkollektiv**

Zunächst werden anhand von Fehlerbalken die Hormonexkretionsmengen bzw. die Enzymaktivitäten der ISS-Probanden und der Kontrollgruppe dargestellt. Dies geschieht für Jungen und Mädchen getrennt. Anhand der Fehlerbalken lassen sich auch evtl. Unterschiede im Verlauf der Hormonexkretion erkennen.

Darauf folgt der Vergleich der Hormonexkretionsraten bzw. Enzymaktivitäten der ISS-Probanden mit denen der Kontrollgruppe anhand von Boxplots. Mittels der SDS-Mediane lässt sich leicht erkennen, ob die ISS-Gruppe höhere, geringere oder die gleichen Hormonexkretionsraten bzw. Enzymaktivitäten wie die Kontrollgruppe hatte.

### 3.1.1 Exkretionsraten von DHEA und Metaboliten

#### DHEA-Exkretion der ISS-Probanden und der Kontrollgruppe in $\mu\text{g/d}$ – Jungen

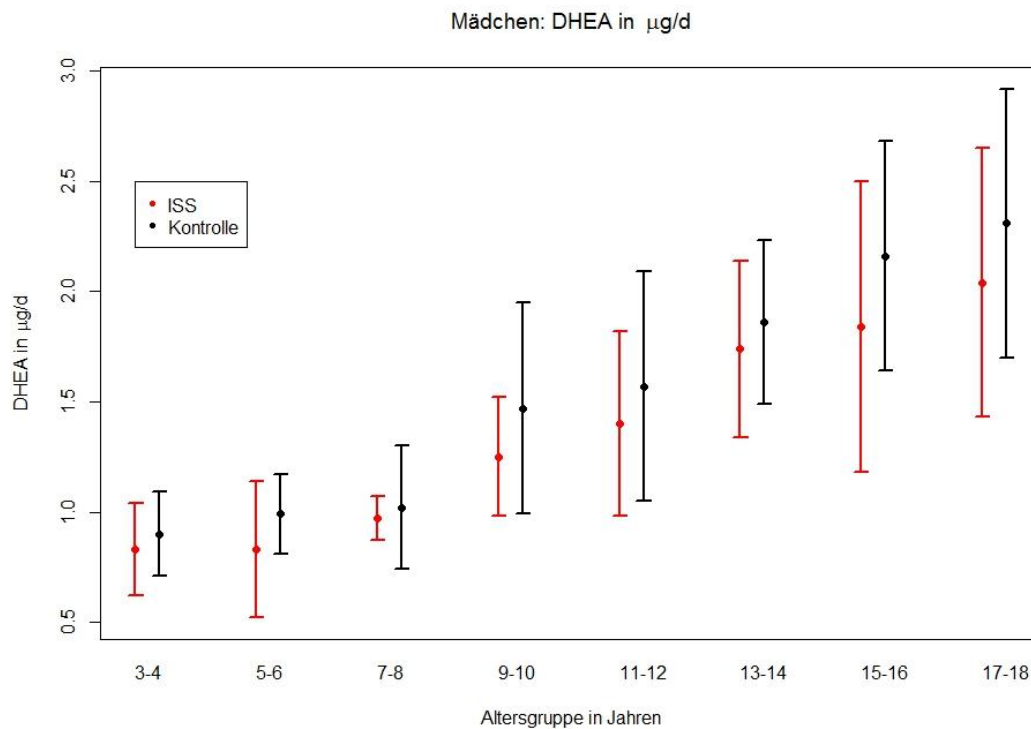


**Abbildung 12:** Exkretionsraten der ISS-Probanden und der Kontrollgruppe für DHEA in  $\mu\text{g/d}$  - Jungen

**Tabelle 11:** Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen (SD) der Exkretionsraten der ISS-Probanden und der Kontrollgruppe für DHEA in  $\mu\text{g/d}$  - Jungen

Altersgruppe in Jahren	3-4	5-6	7-8	9-10	11-12	13-14	15-16	17-18
ISS MW	0,95	0,78	1,27	1,34	1,69	1,71	2,22	2,97
SD		0,28	0,42	0,31	0,48	0,48	0,86	0,61
Kontr. MW	0,91	0,90	1,08	1,53	1,90	2,27	2,09	2,55
SD	0,15	0,30	0,26	0,33	0,59	0,55	0,53	0,54

In beiden Gruppen zeigt sich ein stetiger Anstieg von DHEA mit steigendem Alter. Der Mittelwert für die DHEA-Exkretion liegt bei den ISS-Probanden in den ersten beiden Altersgruppen (3-4 bis 5-6 Jahre) zwischen 0,5 und 1,0  $\mu\text{g/d}$ . Erst bei den 7-8-Jährigen liegt er über 1  $\mu\text{g/d}$  und steigt bis auf ca. 3,0  $\mu\text{g/d}$  bei den 17-18-Jährigen an.

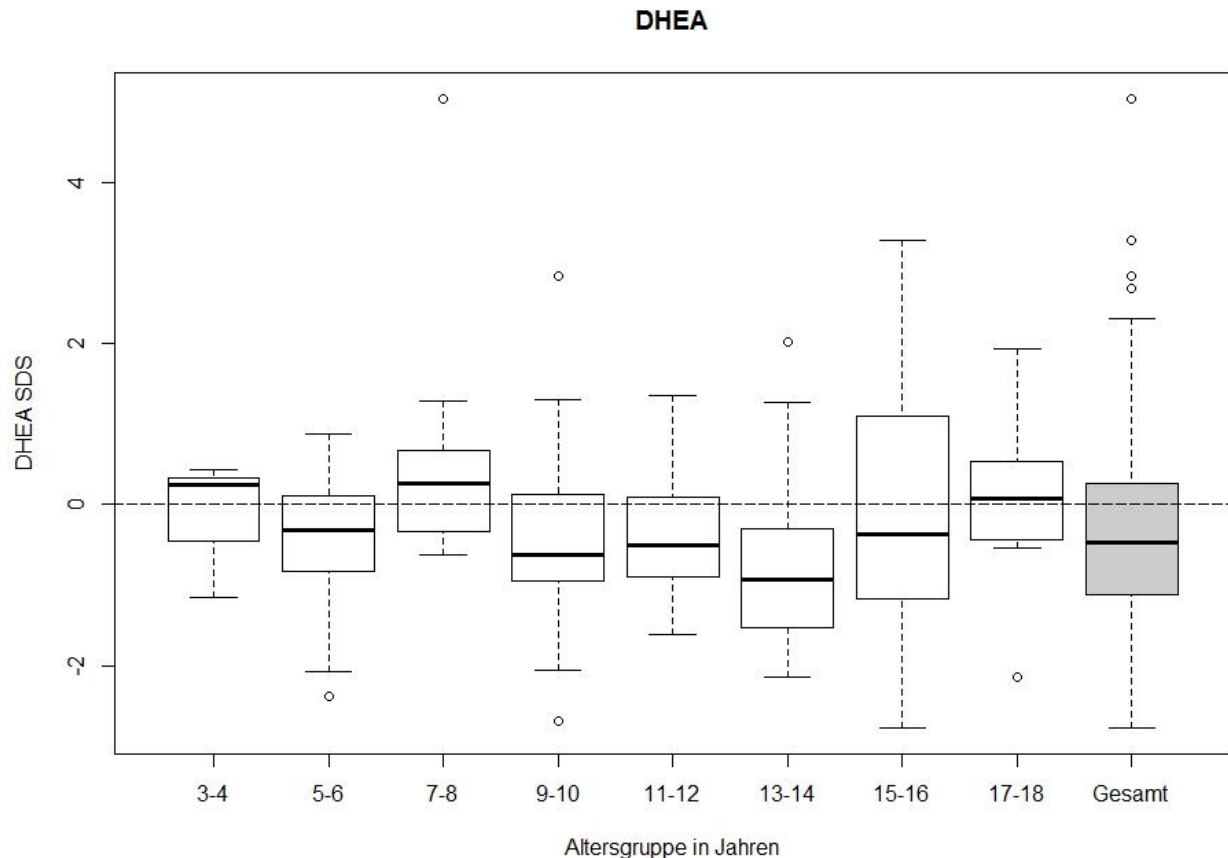
DHEA-Exkretion der ISS-Probanden und der Kontrollgruppe in  $\mu\text{g/d}$  – Mädchen

**Abbildung 13:** Exkretionsraten der ISS-Probanden und der Kontrollgruppe für DHEA in  $\mu\text{g/d}$  - Mädchen

**Tabelle 12:** Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen (SD) der Exkretionsraten der ISS-Probanden und der Kontrollgruppe für DHEA in  $\mu\text{g/d}$  - Mädchen

Altersgruppe in Jahren	3-4	5-6	7-8	9-10	11-12	13-14	15-16	17-18
ISS MW	0,83	0,83	0,97	1,25	1,40	1,74	1,84	2,04
SD	0,21	0,31	0,10	0,27	0,42	0,40	0,66	0,61
Kontr. MW	0,90	0,99	1,02	1,47	1,57	1,86	2,16	2,31
SD	0,19	0,18	0,28	0,48	0,52	0,37	0,52	0,61

Auch bei den Mädchen zeigt sich in beiden Gruppen mit steigendem Alter ein stetiger Anstieg der DHEA-Exkretion. Der Mittelwert liegt bei den 3-4-jährigen ISS-Mädchen zwischen 0,5 und 1,0  $\mu\text{g/d}$ . Anders als bei den Jungen liegt der Mittelwert erst bei den 9-10-Jährigen über 1,0  $\mu\text{g/d}$  und steigt bis auf ca. 2,0  $\mu\text{g/d}$  (ISS) bzw. 2,3  $\mu\text{g/d}$  (Kontrolle) bei den 17-18-Jährigen an.

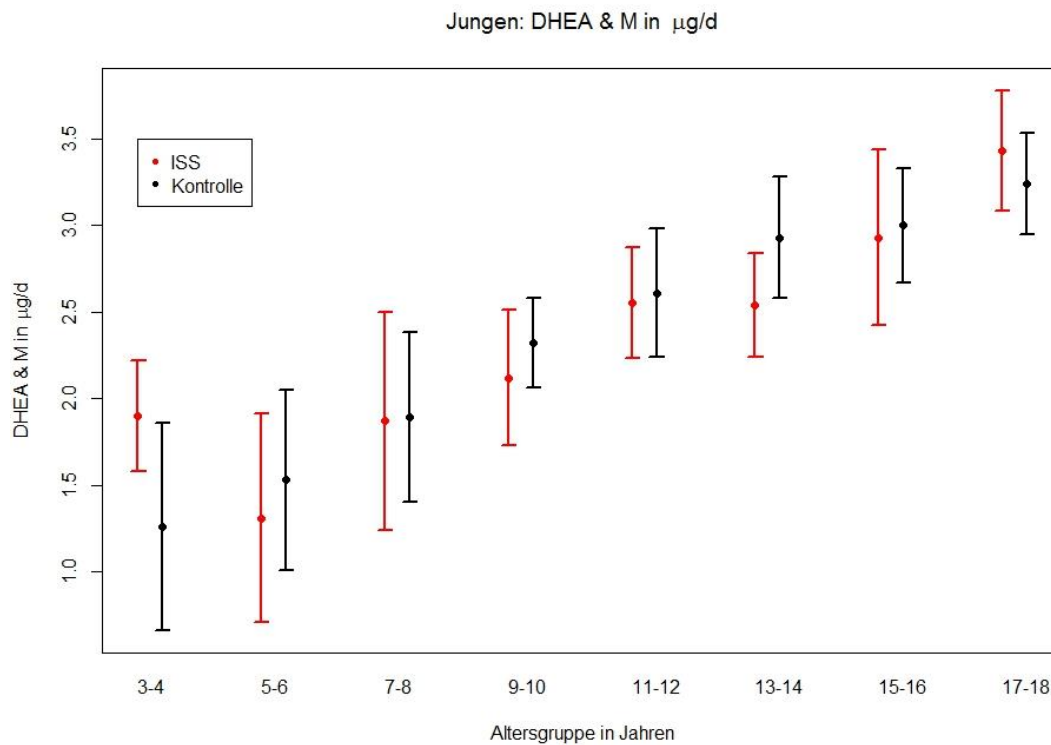
**Abbildung 14:** DHEA SDS**Tabelle 13:** DHEA SDS

Altersgruppe in Jahren	3-4	5-6	7-8	9-10	11-12	13-14	15-16	17-18	ISS gesamt
gültige Fallzahl n	6	14	15	35	25	31	29	8	163
Median	0,24	-0,32	0,26	-0,62	-0,50	-0,94	-0,37	0,07	<b>-0,47</b>
p-Wert	0,776	0,140	0,211	0,006	0,036	< 0,001	0,714	0,055	<b>0,001</b>

In den meisten Altersgruppen der ISS-Probanden beträgt der SDS-Median  $< 0$ .

In der Altersgruppe der 13-14-jährigen ISS-Probanden fällt der Median nach unten ab und steigt bei den 15-16-jährigen wieder an. Der SDS-Median des Gesamtkollektivs ist deutlich  $< 0$ . Vergleicht man die Altersgruppen, so ist der p-Wert bei den 9-14-Jährigen signifikant.

Im Gesamtkollektiv ISS ist der p-Wert mit 0,001 hoch signifikant. Dies bedeutet, dass die DHEA-Exkretion bei den ISS-Probanden signifikant geringer ist als in der Kontrollgruppe.

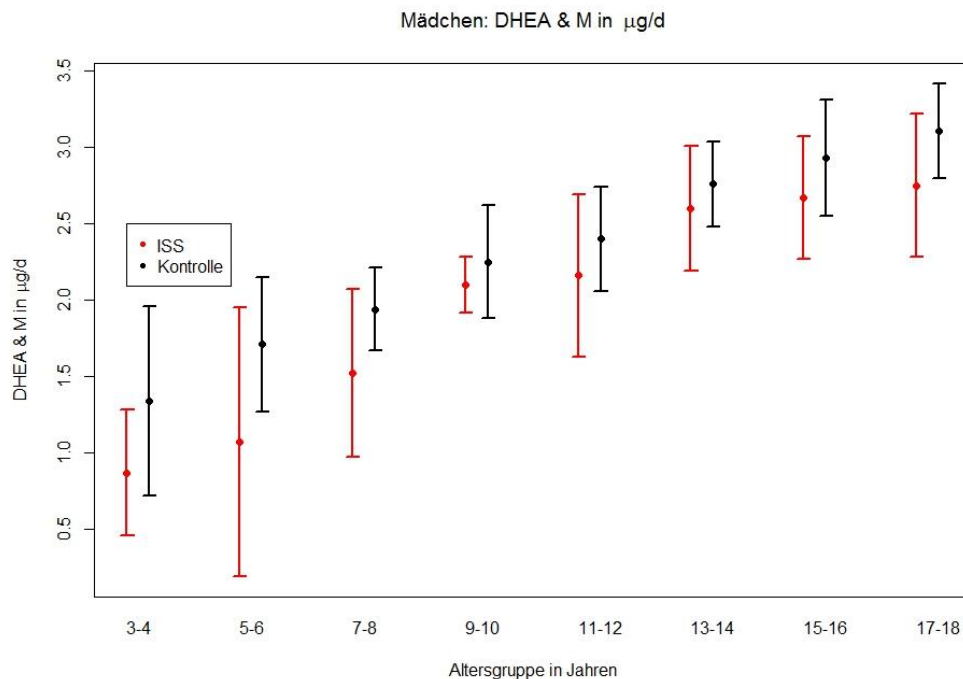
DHEA&M-Exkretion der ISS-Probanden und der Kontrollgruppe in  $\mu\text{g/d}$  – Jungen

**Abbildung 15:** Exkretionsraten der ISS-Probanden und der Kontrollgruppe für DHEA&M in  $\mu\text{g/d}$  - Jungen

**Tabelle 14:** Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen (SD) der Exkretionsraten der ISS-Probanden und der Kontrollgruppe für DHEA&M in  $\mu\text{g/d}$  - Jungen

Altersgruppe in Jahren	3-4	5-6	7-8	9-10	11-12	13-14	15-16	17-18
<b>ISS MW</b>	<b>1,90</b>	<b>1,31</b>	<b>1,87</b>	<b>2,12</b>	<b>2,55</b>	<b>2,54</b>	<b>2,93</b>	<b>3,43</b>
<b>SD</b>	0,32	0,60	0,63	0,39	0,32	0,30	0,51	0,35
<b>Kontr. MW</b>	<b>1,26</b>	<b>1,53</b>	<b>1,89</b>	<b>2,32</b>	<b>2,61</b>	<b>2,93</b>	<b>3,00</b>	<b>3,24</b>
<b>SD</b>	0,60	0,52	0,49	0,26	0,37	0,35	0,33	0,29

In beiden Gruppen zeigt sich mit steigendem Alter ein stetiger Anstieg von DHEA und den beiden Metaboliten. Anders als bei DHEA allein liegt der Mittelwert bei den Jüngsten schon über  $1,0 \mu\text{g/d}$ . Ab dem 7. Lebensjahr steigt der Mittelwert in beiden Gruppen deutlich an und beträgt fast  $1,9 \mu\text{g/d}$ . Vom 7. bis zum 12. Lebensjahr ist der Anstieg am deutlichsten. Die höchsten Mittelwerte liegen bei etwas über  $3 \mu\text{g/d}$  bei den 17-18-Jährigen.

DHEA&M-Exkretion der ISS-Probanden und der Kontrollgruppe in  $\mu\text{g/d}$  – Mädchen

**Abbildung 16:** Exkretionsraten der ISS-Probanden und der Kontrollgruppe für DHEA&M in  $\mu\text{g/d}$  - Mädchen

**Tabelle 15:** Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen (SD) der Exkretionsraten der ISS-Probanden und der Kontrollgruppe für DHEA&M in  $\mu\text{g/d}$  - Mädchen

Altersgruppe in Jahren	3-4	5-6	7-8	9-10	11-12	13-14	15-16	17-18
ISS MW	0,87	1,07	1,52	2,10	2,16	2,60	2,67	2,75
SD	0,41	0,88	0,55	0,18	0,53	0,41	0,40	0,47
Kontr. MW	1,34	1,71	1,94	2,25	2,40	2,76	2,93	3,11
SD	0,62	0,44	0,27	0,37	0,34	0,28	0,38	0,31

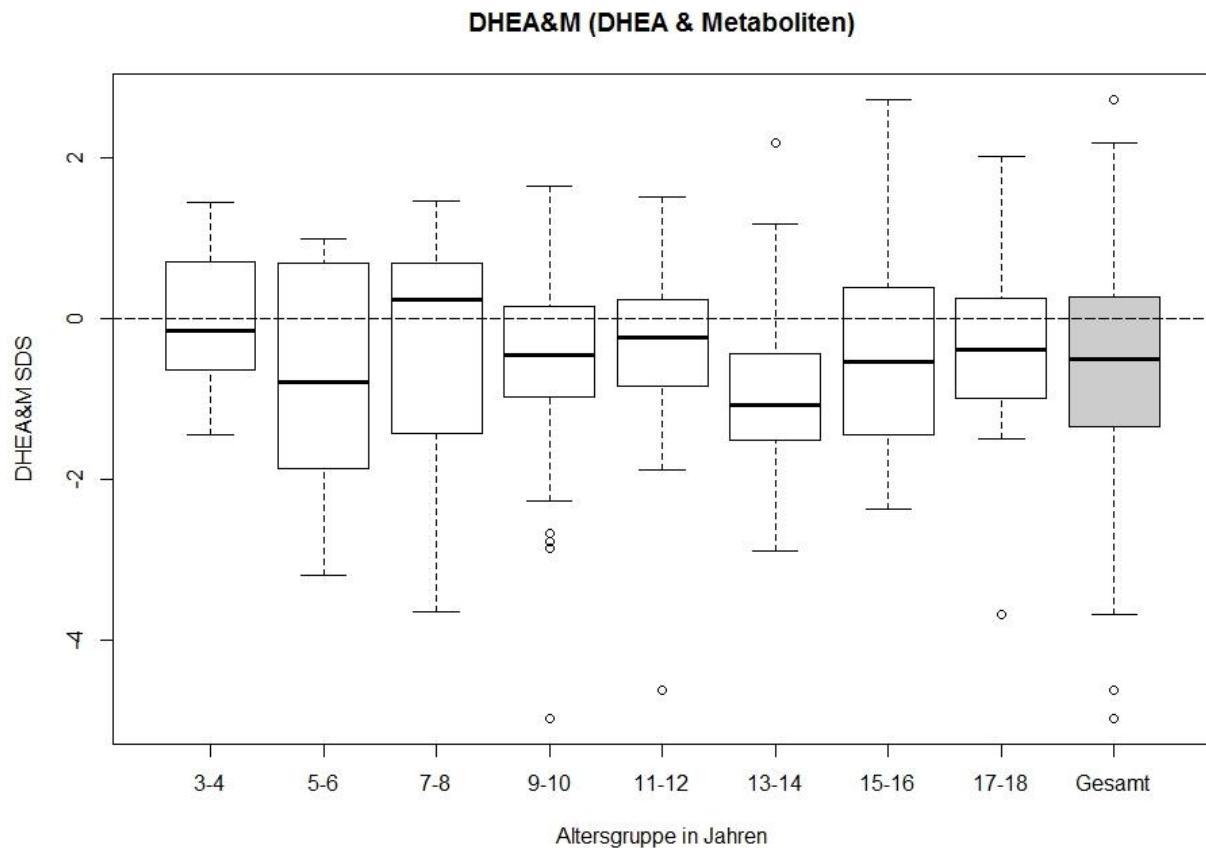
Wie bei den Jungen zeigt sich auch bei den Mädchen in beiden Gruppen mit steigendem Alter ein stetiger Anstieg der Exkretion von DHEA und den beiden Metaboliten. Der Mittelwert steigt bei den ISS-Probanden von ca.  $0,9 \mu\text{g/d}$  bei den 3-4-Jährigen bis auf ca.  $2,7 \mu\text{g/d}$  bei den 17-18-Jährigen an.

In der Kontrollgruppe steigen die Werte von ca.  $1,3 \mu\text{g/d}$  bei den 3-4-Jährigen bis auf ca.  $3 \mu\text{g/d}$  bei den 17-18-Jährigen an.

Der Verlauf der DHEA&M-Exkretion zeigt keine wesentlichen Unterschiede zwischen den Geschlechtern. Allerdings fällt auf, dass in der ISS-Gruppe die Jungen in allen

Altersgruppen höhere Mittelwerte haben als die Mädchen. In der Kontrollgruppe dagegen liegen die Mittelwerte bei den Jungen zunächst sogar niedriger als bei den Mädchen und steigen erst ab 9-10 Jahren darüber an.



**Abbildung 17:** DHEA&M SDS**Tabelle 16:** DHEA&M SDS

Altersgruppe in Jahren	3-4	5-6	7-8	9-10	11-12	13-14	15-16	17-18	ISS gesamt
<b>gültige Fallzahl n</b>	6	14	15	35	25	31	29	8	163
<b>Median</b>	-0,15	-0,80	0,22	-0,45	-0,24	-1,07	-0,54	-0,39	<b>-0,52</b>
<b>p-Wert</b>	0,965	0,080	0,295	0,006	0,098	< 0,001	0,091	0,418	<b>&lt; 0,001</b>

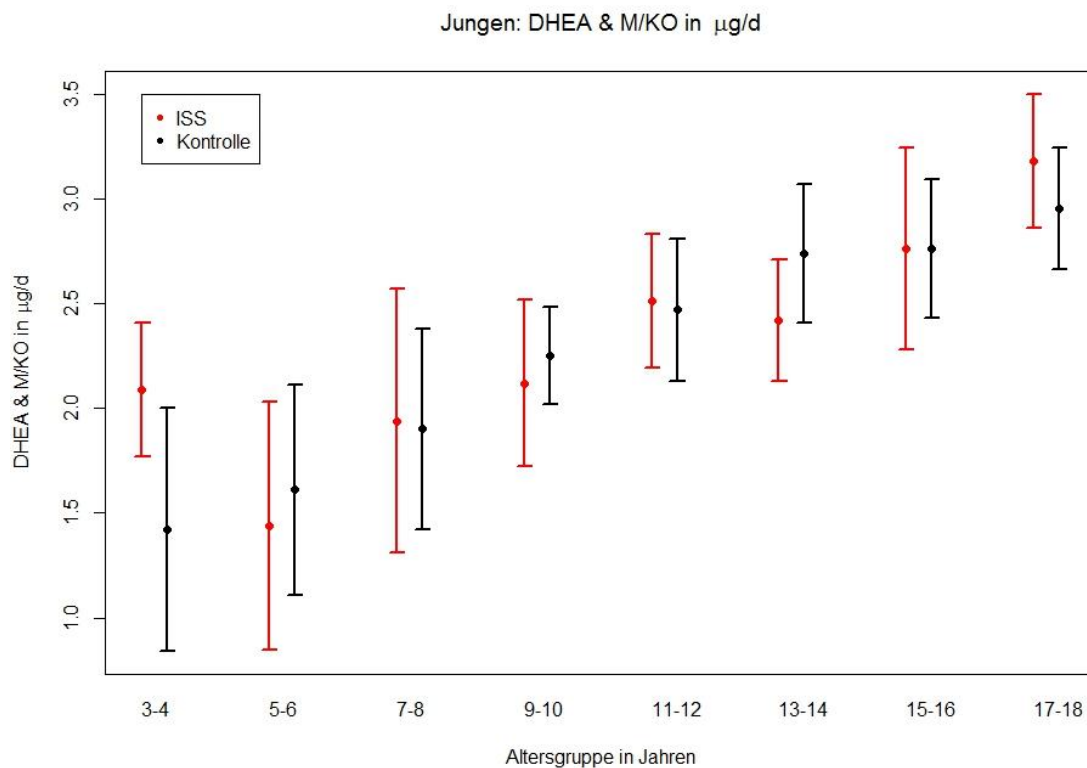
Abgesehen von der Altersgruppe 7-8 Jahre zeigt sich in allen Altersgruppen der ISS-Probanden ein SDS-Median, der unterhalb von 0 liegt.

Wie bei DHEA fällt bei den 13-14-jährigen eine Abweichung des Medians nach unten auf. In dieser Altersgruppe sowie bei den 9-10-Jährigen ist der p-Wert signifikant.

Das Gesamtkollektiv der ISS-Probanden zeigt auch hier einen Median, der deutlich unterhalb von SDS=0 liegt. Der p-Wert ist mit < 0,001 hoch signifikant.

Dies bedeutet, dass die DHEA&M-Exkretion bei den KEV-Probanden signifikant geringer ist als in der Kontrollgruppe.

DHEA&M-Exkretion der ISS-Probanden und der Kontrollgruppe in  $\mu\text{g/d}$  bezogen auf die Körperoberfläche - Jungen



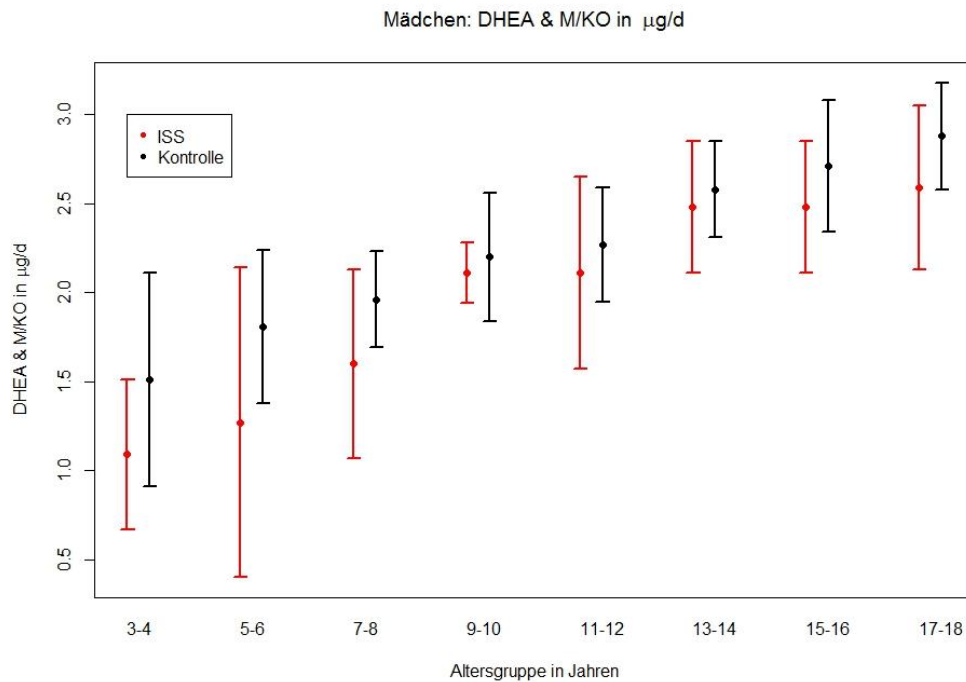
**Abbildung 18:** Exkretionsraten der ISS-Probanden und der Kontrollgruppe für DHEA&M/KO in  $\mu\text{g/d}$  - Jungen

**Tabelle 17:** Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen (SD) der Exkretionsraten der ISS-Probanden und der Kontrollgruppe für DHEA&M/KO in  $\mu\text{g/d}$  - Jungen

Altersgruppe in Jahren	3-4	5-6	7-8	9-10	11-12	13-14	15-16	17-18
ISS MW	2,09	1,44	1,94	2,12	2,51	2,42	2,76	3,18
SD	0,32	0,59	0,63	0,40	0,32	0,29	0,48	0,32
Kontr. MW	1,42	1,61	1,90	2,25	2,47	2,74	2,76	2,95
SD	0,58	0,50	0,48	0,23	0,34	0,33	0,33	0,29

Der Verlauf in beiden Gruppen ist ähnlich wie bei den Messwerten, die nicht auf die Körperoberfläche bezogen wurden. Der Mittelwert liegt bei den 3-4-Jährigen über 1,0  $\mu\text{g/d}$  und steigt bis auf ca. 3  $\mu\text{g/d}$  bei den 17-18-Jährigen an.

DHEA&M-Exkretion der ISS-Probanden und der Kontrollgruppe in  $\mu\text{g/d}$  bezogen auf die Körperoberfläche – Mädchen



**Abbildung 19:** Exkretionsraten der ISS-Probanden und der Kontrollgruppe für DHEA&M/KO in  $\mu\text{g/d}$  - Mädchen

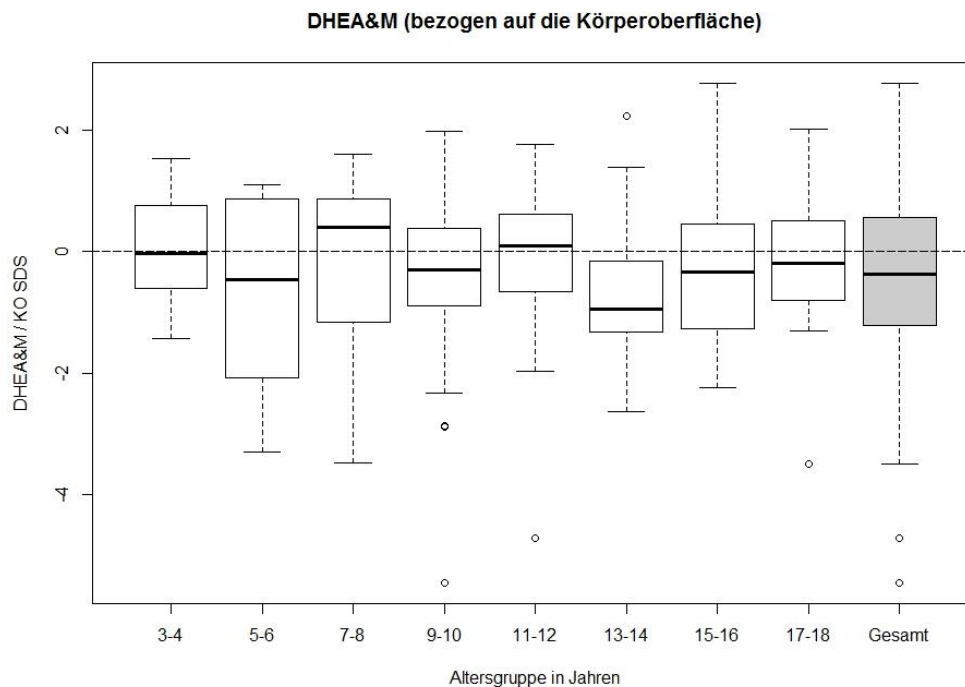
**Tabelle 18:** Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen (SD) der Exkretionsraten der ISS-Probanden und der Kontrollgruppe für DHEA&M/KO in  $\mu\text{g/d}$  - Mädchen

Altersgruppe in Jahren	3-4	5-6	7-8	9-10	11-12	13-14	15-16	17-18
<b>ISS MW</b>	<b>1,09</b>	<b>1,27</b>	<b>1,60</b>	<b>2,11</b>	<b>2,11</b>	<b>2,48</b>	<b>2,48</b>	<b>2,59</b>
<b>SD</b>	0,42	0,87	0,53	0,17	0,54	0,37	0,37	0,46
<b>Kontr. MW</b>	<b>1,51</b>	<b>1,81</b>	<b>1,96</b>	<b>2,20</b>	<b>2,27</b>	<b>2,58</b>	<b>2,71</b>	<b>2,88</b>
<b>SD</b>	0,60	0,43	0,27	0,36	0,32	0,27	0,37	0,30

Auch hier ist in beiden Gruppen der Verlauf ähnlich wie bei den Messergebnissen, die nicht auf die Körperoberfläche bezogen wurden.

Der Mittelwert liegt bei  $> 1,0 \mu\text{g/d}$  bei den 3-4-Jährigen und steigt stetig bis auf ca.  $2,6 \mu\text{g/d}$  (ISS) bzw. ca.  $2,9 \mu\text{g/d}$  (Kontrolle) bei den 17-18-Jährigen an.

Durch den Bezug auf die Körperoberfläche sind die Mengenunterschiede zwischen Jungen und Mädchen nicht mehr so eindeutig.

**Abbildung 20:** DHEA&M/KO SDS**Tabelle 19:** DHEA&M/KO SDS

Altersgruppe in Jahren	3-4	5-6	7-8	9-10	11-12	13-14	15-16	17-18	ISS gesamt
gültige Fallzahl n	6	14	15	35	25	31	29	8	163
Median	-0,03	-0,45	0,41	-0,30	0,10	-0,95	-0,34	-0,19	<b>-0,36</b>
p-Wert	0,932	0,137	0,724	0,079	0,499	0,001	0,258	0,605	<b>&lt; 0,001</b>

In der Altersgruppe der 3-4-jährigen ISS-Probanden liegt der SDS-Median praktisch bei Null, fällt bei den 5-6-Jährigen ab und steigt in bei den 7-8-jährigen wieder auf über Null an.

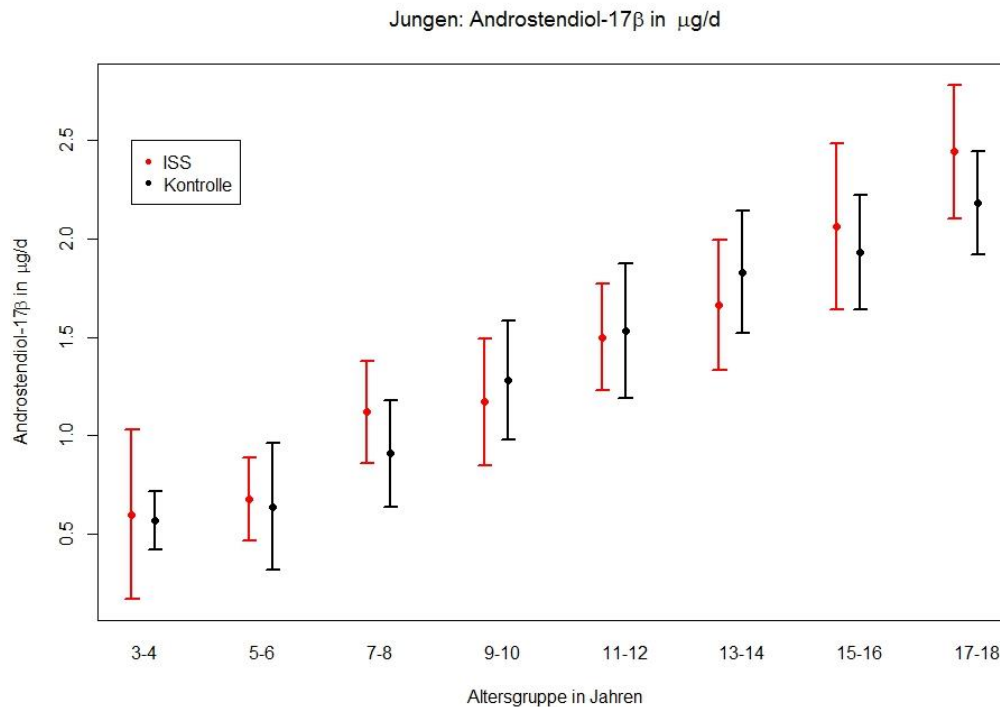
Dann zeigt sich ein tendenzieller Abfall mit einem Tiefpunkt bei den 13-14-Jährigen. In der Altersgruppen 15-16 Jahre und 17-18 Jahre steigt der SDS wieder an, bleibt aber weiterhin unter Null. Der p-Wert ist nur bei den 13-14-Jährigen signifikant.

Die Gesamtheit der ISS-Probanden liegt mit dem SDS für DHEA&M deutlich unter Null. Der p-Wert ist mit  $< 0,001$  hoch signifikant. Dies bedeutet, dass die Exkretion für DHEA&M/KO bei den KEV-Probanden signifikant geringer ist als in der Kontrollgruppe.

Insgesamt ist der Verlauf der SDS-Mediane ähnlich wie in der Berechnung *ohne* Bezug auf die Körperoberfläche.

Lediglich bei den 11-12-Jährigen ist der SDS-Median nun positiv (0,10), während er vorher negativ war (-0,24).

### Androstendiol 17- $\beta$ -Exkretion der ISS-Probanden und der Kontrollgruppe in $\mu\text{g/d}$ – Jungen



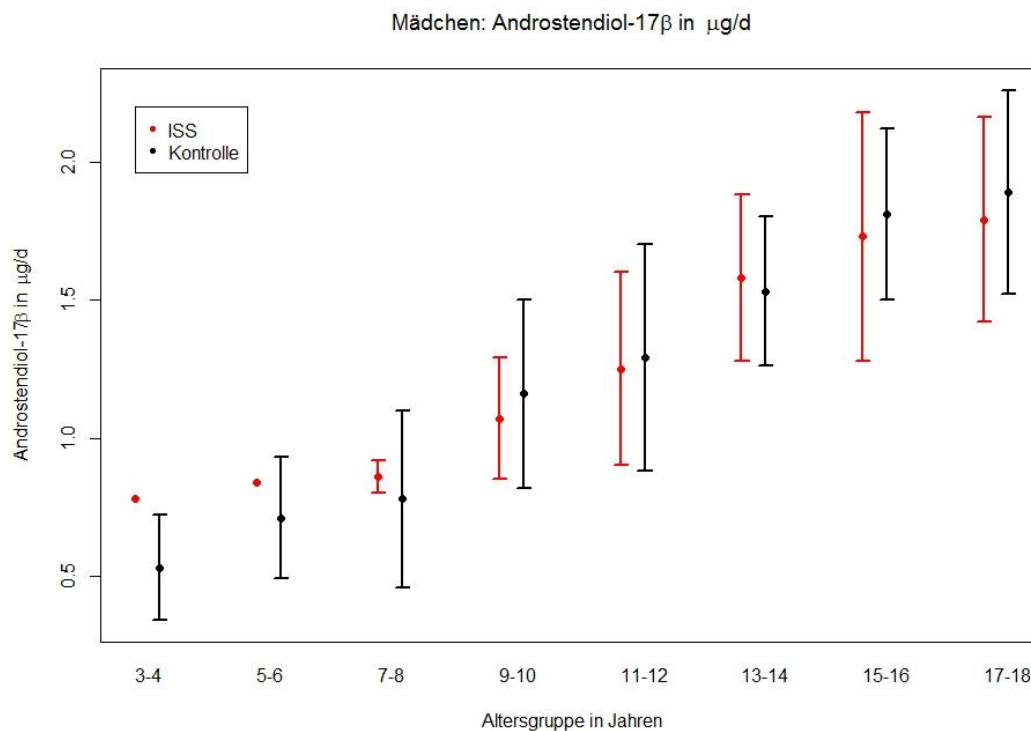
**Abbildung 21:** Exkretionsraten der ISS-Probanden und der Kontrollgruppe für Androstendiol-17 $\beta$   $\mu\text{g/d}$  - Jungen

**Tabelle 20:** Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen (SD) der Exkretionsraten der ISS-Probanden und der Kontrollgruppe für Androstendiol-17 $\beta$   $\mu\text{g/d}$  - Jungen

Altersgruppe in Jahren	3-4	5-6	7-8	9-10	11-12	13-14	15-16	17-18
<b>ISS MW</b>	<b>0,60</b>	<b>0,68</b>	<b>1,12</b>	<b>1,17</b>	<b>1,50</b>	<b>1,66</b>	<b>2,06</b>	<b>2,44</b>
<b>SD</b>	0,43	0,21	0,26	0,32	0,27	0,33	0,42	0,34
<b>Kontr. MW</b>	<b>0,57</b>	<b>0,64</b>	<b>0,91</b>	<b>1,28</b>	<b>1,53</b>	<b>1,83</b>	<b>1,93</b>	<b>2,18</b>
<b>SD</b>	0,15	0,32	0,27	0,30	0,34	0,31	0,29	0,26

In beiden Gruppen lässt sich mit steigendem Alter ein steiler Anstieg für die Exkretion von Androstendiol-17 $\beta$  verzeichnen. Der Mittelwert liegt bei 0,6  $\mu\text{g/d}$  bei den 3-4-Jährigen. Ab 7-8 Jahren liegt der Wert bei ca. 1,0  $\mu\text{g/d}$  und steigt bis auf 2,4  $\mu\text{g/d}$  bei den ISS-Probanden bzw. ca. 2,2  $\mu\text{g/d}$  in der Kontrollgruppe in der Altersgruppe der 17-18-Jährigen an.

### Androstendiol 17- $\beta$ -Exkretion der ISS-Probanden und der Kontrollgruppe in $\mu\text{g/d}$ – Mädchen



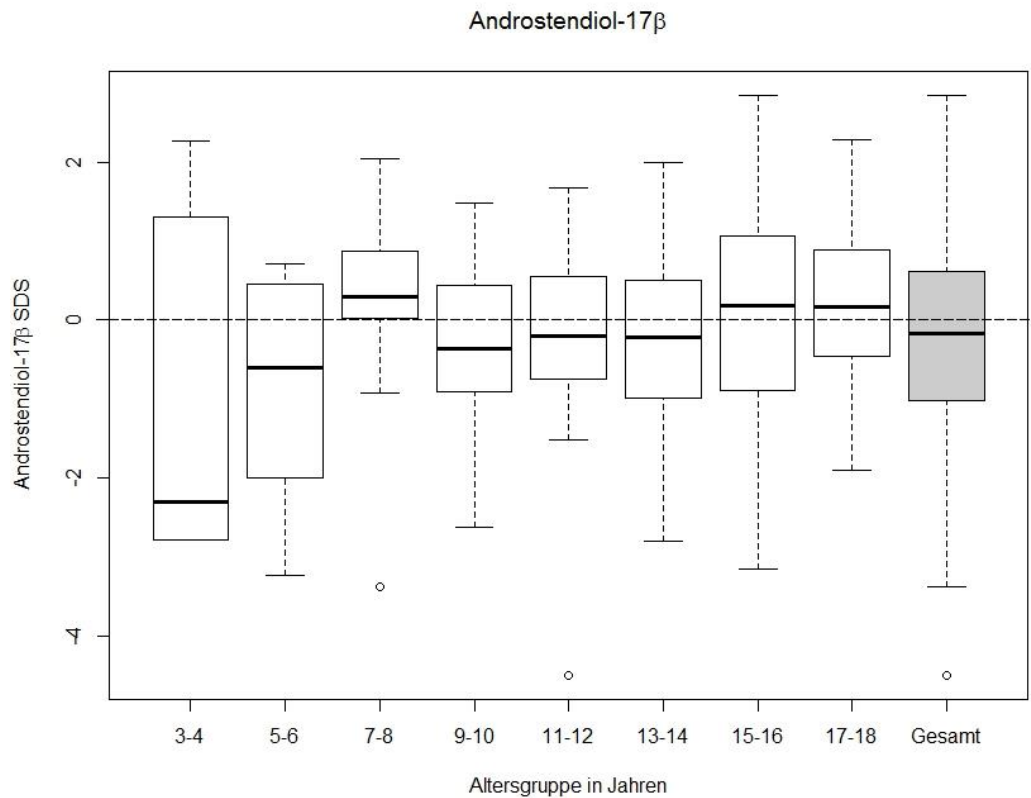
**Abbildung 22:** Exkretionsraten der ISS-Probanden und der Kontrollgruppe für Androstendiol-17 $\beta$  in  $\mu\text{g/d}$  - Mädchen

**Tabelle 21:** Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen (SD) der Exkretionsraten der ISS-Probanden und der Kontrollgruppe für Androstendiol-17 $\beta$  in  $\mu\text{g/d}$  - Mädchen

Altersgruppe in Jahren	3-4	5-6	7-8	9-10	11-12	13-14	15-16	17-18
ISS MW	0,78	0,84	0,86	1,07	1,25	1,58	1,73	1,79
SD			0,06	0,22	0,35	0,30	0,45	0,37
Kontr. MW	0,53	0,71	0,78	1,16	1,29	1,53	1,81	1,89
SD	0,19	0,22	0,32	0,34	0,41	0,27	0,31	0,37

Auch bei den Mädchen zeigt sich ein stetiger Anstieg für die Exkretion von Androstendiol-17- $\beta$  mit steigendem Alter. Der Anstieg erscheint nicht ganz so steil wie bei den Jungen.

Der Mittelwert liegt vom 3. bis zum 8. Lebensjahr noch unter  $1,0 \mu\text{g/d}$ . Erst ab dem 9. Lebensjahr liegt er  $> 1,0 \mu\text{g/d}$  und steigt bis auf ca.  $1,8 \mu\text{g/d}$  bei den 17-18-Jährigen an.

**Abbildung 23:** Androstendiol 17 $\beta$ -SDS**Tabelle 22:** Androstendiol 17- $\beta$  SDS

Alters-gruppe in Jahren	3-4	5-6	7-8	9-10	11-12	13-14	15-16	17-18	ISS gesamt
<b>gültige Fallzahl n</b>	6	14	15	35	25	31	29	8	163
<b>Median</b>	-2,30	-0,60	0,29	-0,37	-0,21	-0,23	0,19	0,16	<b>-0,17</b>
<b>p-Wert</b>	0,291	0,034	0,859	0,053	0,270	0,169	0,634	0,662	<b>0,019</b>

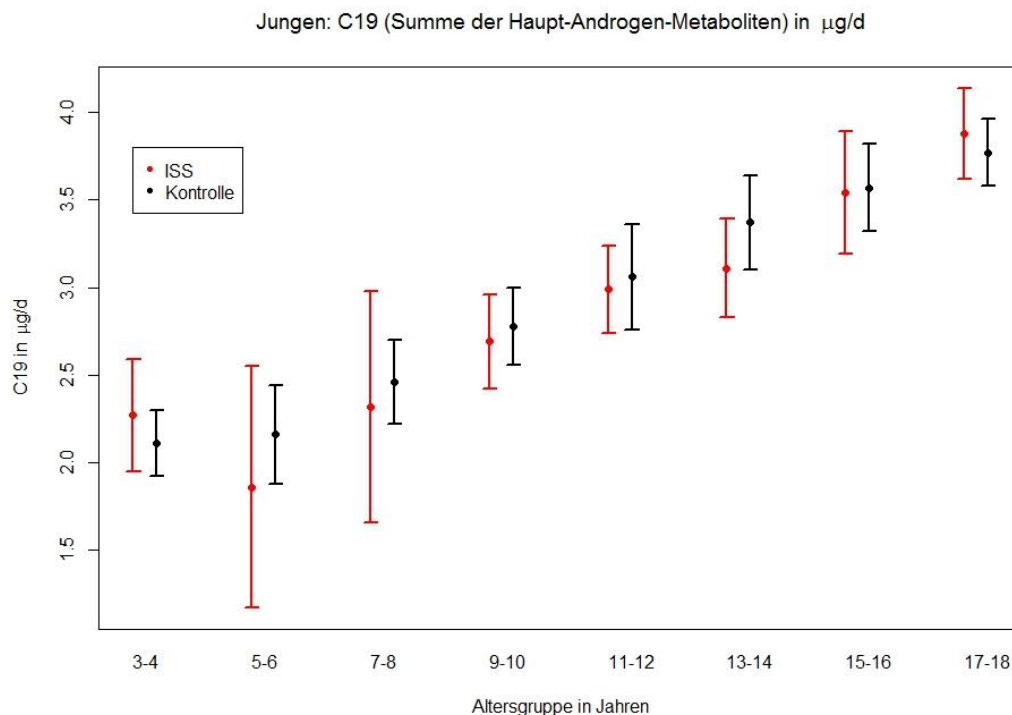
In den meisten Altersgruppen beträgt der SDS-Median  $< 0$ .

In der Altersgruppe der 3-4-jährigen ISS-Probanden liegt der SDS-Median für Androstendiol-17 $\beta$  am niedrigsten (-2,30). Zwischen dem 9. und 14. Lebensjahr ist der Median relativ konstant zwischen 0 und -1 und liegt vom 15. bis 18. Lebensjahr knapp  $> 0$ . Nach dem 12. Lebensjahr fällt keine Abweichung des Medians nach unten auf wie bei DHEA und DHEA&M. Der p-Wert ist nur bei den 5-6-Jährigen signifikant.

Der Median des Gesamtkollektivs der ISS-Probanden liegt ebenfalls unter Null. Der p-Wert des Gesamtkollektivs ist mit 0,019 signifikant. Dies bedeutet, dass die Exkretion für Androstendiol-17 $\beta$  bei den ISS-Probanden signifikant geringer ist als in der Kontrollgruppe.



### C19-Exkretion (Summe der Hauptandrogenmetaboliten) der ISS-Probanden und der Kontrollgruppe in $\mu\text{g/d}$ – Jungen



**Abbildung 24:** Exkretionsrate der ISS-Probanden und der der Kontrollgruppe für C19 in  $\mu\text{g/d}$  - Jungen

**Tabelle 23:** Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen (SD) der Exkretionsrate der ISS-Probanden und der der Kontrollgruppe für C19 in  $\mu\text{g/d}$  - Jungen

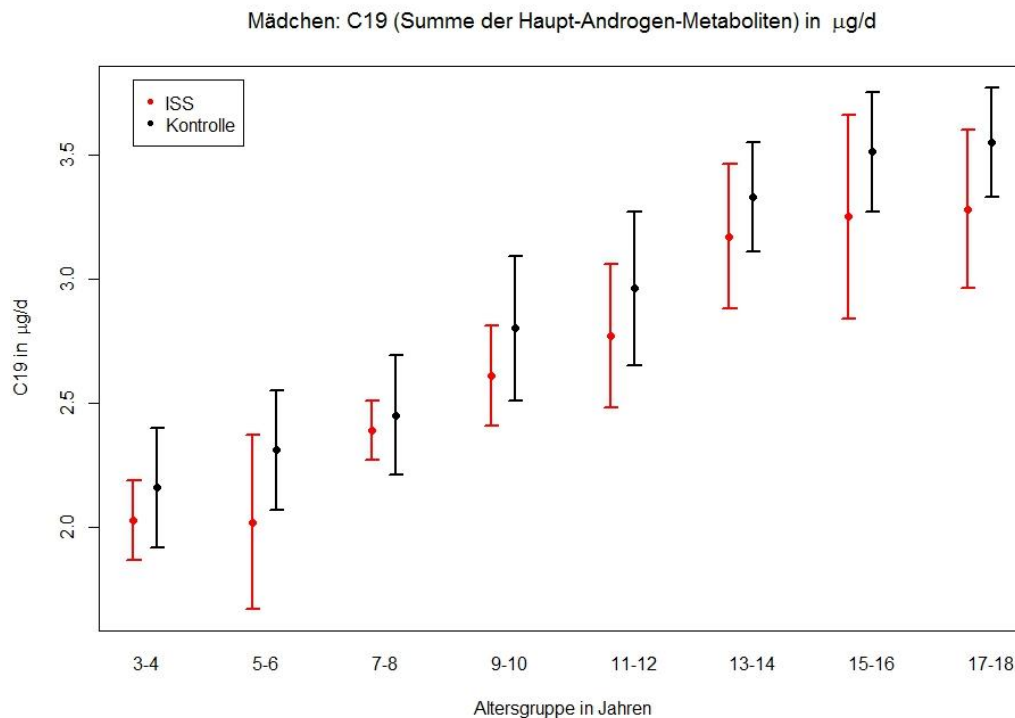
Altersgruppe in Jahren	3-4	5-6	7-8	9-10	11-12	13-14	15-16	17-18
ISS MW	2,27	1,86	2,32	2,69	2,99	3,11	3,54	3,88
SD	0,32	0,69	0,66	0,27	0,25	0,28	0,35	0,26
Kontr. MW	2,11	2,16	2,46	2,78	3,06	3,37	3,57	3,77
SD	0,19	0,28	0,24	0,22	0,30	0,27	0,25	0,19

Für beide Gruppen zeigt sich ein stetiger Anstieg der Exkretion mit steigendem Alter.

Ab dem 7.-8. Lebensjahr ist der steile Verlauf deutlich. Die Mittelwerte liegen zwischen 2,0 und 2,5  $\mu\text{g/d}$  bei den 3-4-Jährigen und steigen bis auf 3,5 bis ca. 4,0  $\mu\text{g/d}$  bei den 17-18-Jährigen an.

Lediglich bei den 5-6-jährigen ISS-Probanden liegt der Mittelwert knapp unterhalb von 2,0  $\mu\text{g/d}$ .

C19-Exkretion (Summe der Hauptandrogenmetaboliten) der ISS-Probanden und der Kontrollgruppe in  $\mu\text{g/d}$  – Mädchen



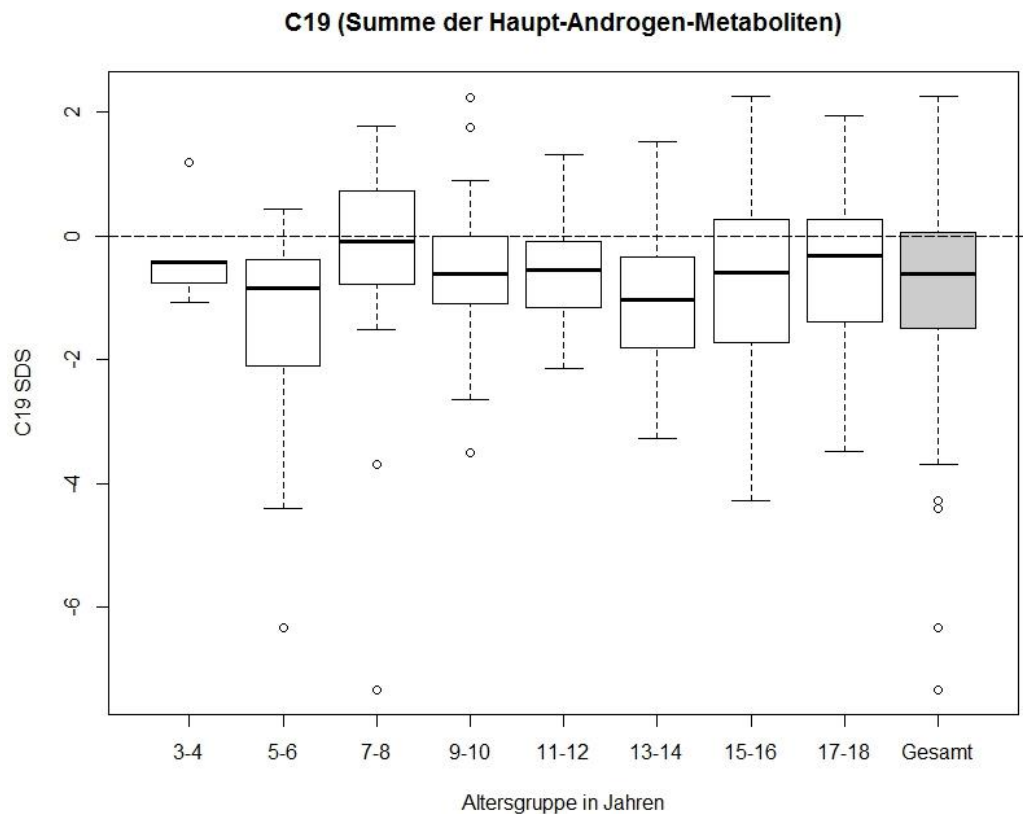
**Abbildung 25:** Exkretionsraten der ISS-Probanden und der Kontrollgruppe für C19 in  $\mu\text{g/d}$  - Mädchen

**Tabelle 24:** Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen (SD) der Exkretionsraten der ISS-Probanden und der Kontrollgruppe für C19 in  $\mu\text{g/d}$  - Mädchen

Altersgruppe in Jahren	3-4	5-6	7-8	9-10	11-12	13-14	15-16	17-18
ISS MW	2,03	2,02	2,39	2,61	2,77	3,17	3,25	3,28
SD	0,16	0,35	0,12	0,20	0,29	0,29	0,41	0,32
Kontr. MW	2,16	2,31	2,45	2,80	2,96	3,33	3,51	3,55
SD	0,24	0,24	0,24	0,29	0,31	0,22	0,24	0,22

Auch bei den Mädchen zeigt sich ein stetiger Anstieg der C19-Sekretion mit steigendem Alter. Die höchsten Mittelwerte liegen bei  $3,3 \mu\text{g/d}$  (ISS) und  $3,5 \mu\text{g/d}$  (Kontrolle) bei den 17-18-Jährigen.

Insgesamt lassen sich sowohl innerhalb des ISS-Kollektivs als auch innerhalb der Kontrollgruppe keine Geschlechtsunterschiede bezüglich der C19-Exkretion erkennen.

**Abbildung 26:** C19 SDS**Tabelle 25:** C19 SDS

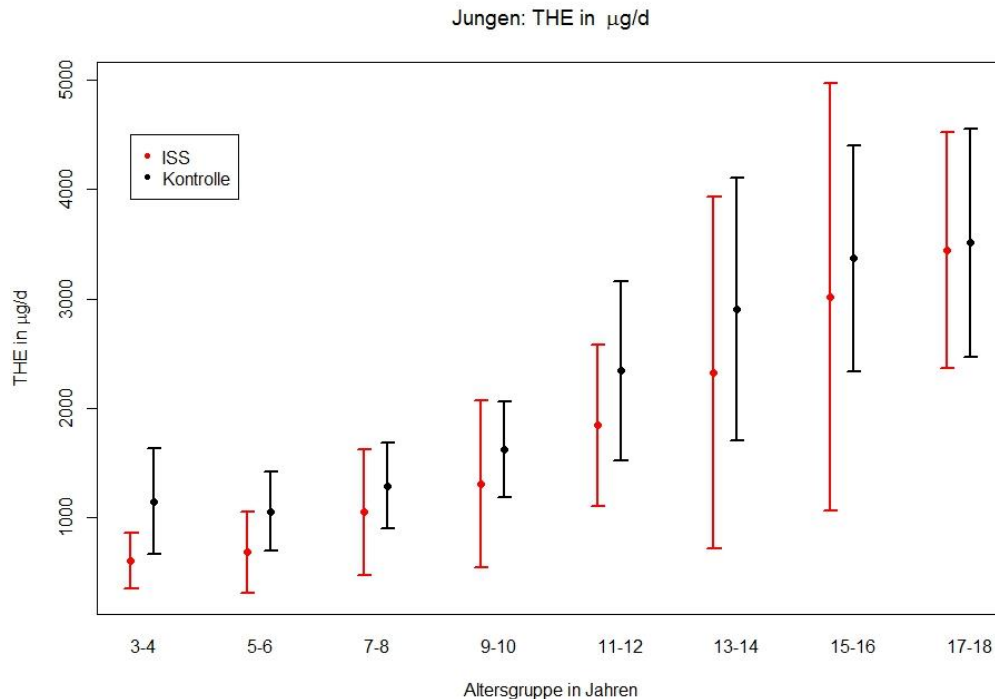
Altersgruppe in Jahren	3-4	5-6	7-8	9-10	11-12	13-14	15-16	17-18	ISS gesamt
gültige Fallzahl n	5	14	15	35	25	31	29	8	162
Median	-0,42	-0,84	-0,10	-0,61	-0,56	-1,02	-0,60	-0,32	<b>-0,61</b>
p-Wert	0,489	0,008	0,340	0,007	0,007	< 0,001	0,040	0,366	<b>&lt; 0,001</b>

Der SDS-Median beträgt in allen Altersgruppen  $< 0$ . Bei den 7-8-Jährigen liegt er mit -0,10 deutlich höher als in den anderen Altersgruppen, bei den 13-14-Jährigen liegt er am niedrigsten (-1,02). Bei den 9-16jährigen ISS-Probanden ist der p-Wert signifikant, d.h. im Vergleich zu den entsprechenden Altersgruppen der Kontrollgruppe ist die Exkretionsrate signifikant niedriger.

Auch für das Gesamtkollektiv der ISS-Probanden liegt der SDS-Median unter 0. Der p-Wert ist mit  $< 0,001$  hoch signifikant. Dies bedeutet, die Exkretionsraten der ISS-Probanden ist signifikant niedriger als die der Kontrollgruppe.

### 3.1.2 Exkretionsraten der Glucocorticoid-Metaboliten

#### Exkretionsraten der ISS-Probanden und der Kontrollgruppe für THE in $\mu\text{g/d}$ – Jungen



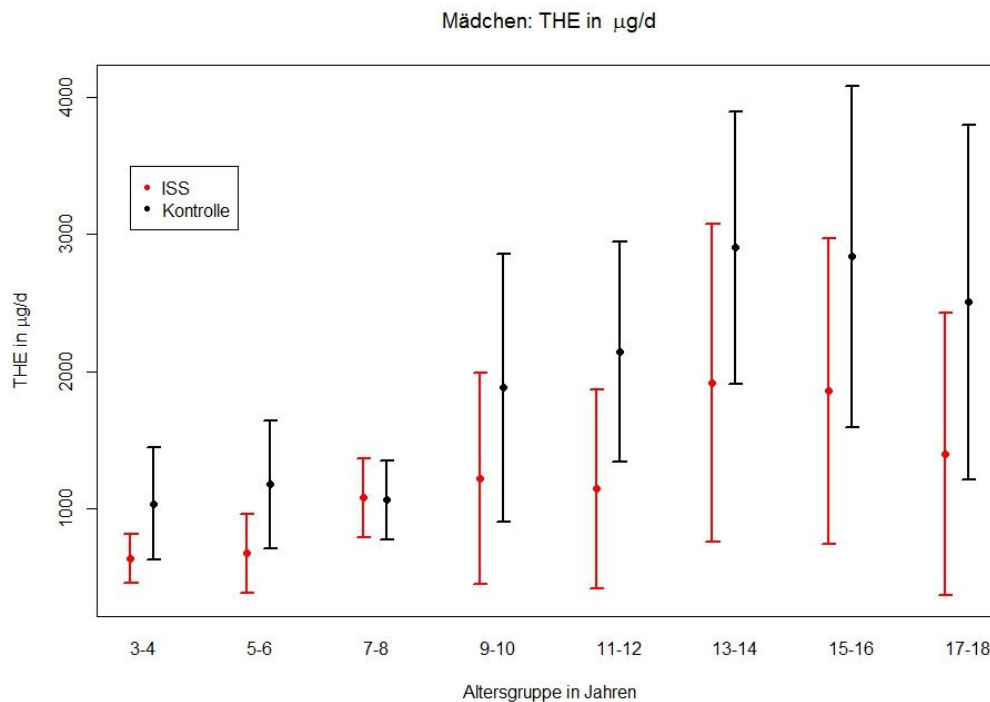
**Abbildung 27:** Exkretionsraten der ISS-Probanden und der Kontrollgruppe für THE in  $\mu\text{g/d}$  – Jungen

**Tabelle 26:** Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen (SD) der Exkretionsraten der ISS-Probanden und der Kontrollgruppe für THE in  $\mu\text{g/d}$  – Jungen

Altersgruppe in Jahren	3-4	5-6	7-8	9-10	11-12	13-14	15-16	17-18
ISS MW	605	685	1051	1308	1843	2326	3019	3439
SD	256	374	577	758	732	1601	1952	1076
Kontr. MW	1151	1059	1291	1625	2343	2905	3367	3511
SD	483	364	393	438	816	1198	1028	1041

Sowohl bei den ISS-Probanden als auch in der Kontrolle zeigt sich ein stetiger Anstieg der Exkretionsrate für THE. In den Altersgruppen 3-4 bis 7-8 Jahre ist der Anstieg relativ flach; der Mittelwert liegt hier bei  $\leq 1000 \mu\text{g/d}$ . Ab dem 9. Lebensjahr liegt der Mittelwert deutlich über  $1000 \mu\text{g/d}$  und der Anstieg ist deutlich steiler als vorher. Die

höchsten Mittelwerte liegen bei ca. 3400 µg/d (ISS) bzw. 3500 µg/d (Kontrolle) in der Altersgruppe der 17-18-Jährigen.

Exkretionsraten der ISS-Probanden und der Kontrollgruppe für THE in  $\mu\text{g/d}$  – Mädchen

**Abbildung 28:** Exkretionsraten der ISS-Probanden und der Kontrollgruppe für THE in  $\mu\text{g/d}$ - Mädchen

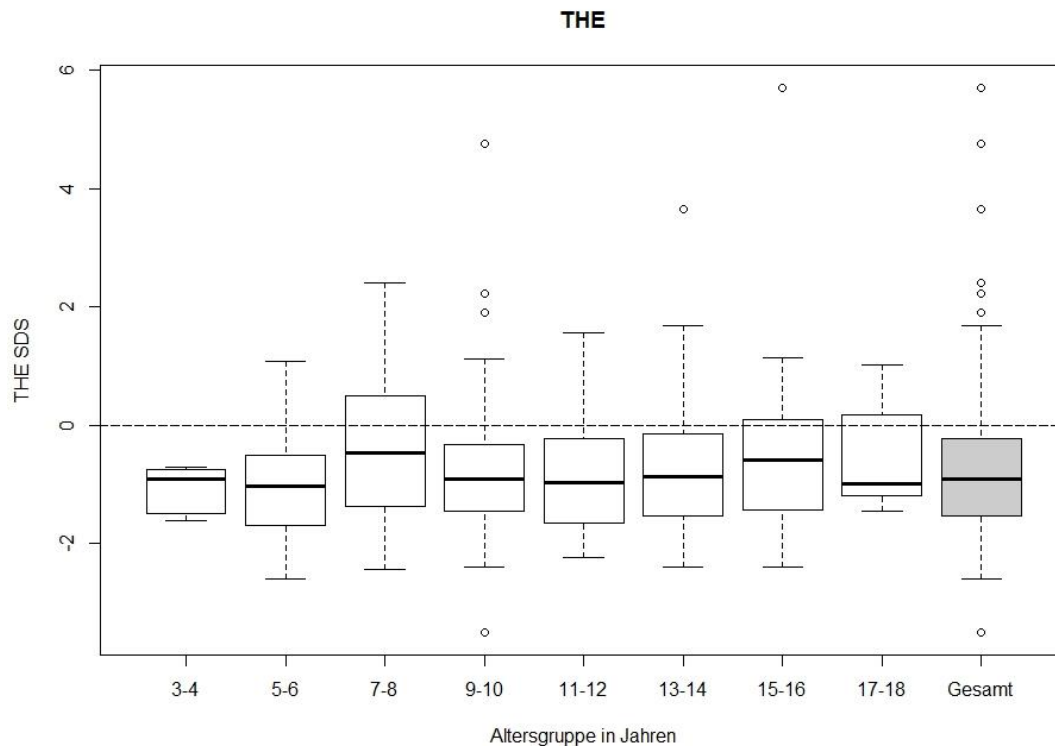
**Tabelle 27:** Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen (SD) der Exkretionsraten der ISS-Probanden und der Kontrollgruppe für THE in  $\mu\text{g/d}$ - Mädchen

Altersgruppe in Jahren	3-4	5-6	7-8	9-10	11-12	13-14	15-16	17-18
ISS MW	639	675	1080	1222	1145	1920	1858	1398
SD	176	289	288	772	725	1158	1114	1030
Kontr. MW	1037	1177	1066	1882	2145	2904	2840	2506
SD	409	464	287	978	804	993	1244	1290

In beiden Gruppen beträgt der Mittelwert bis zum 8. Lebensjahr ca.  $\leq 1000 \mu\text{g/d}$ , ähnlich wie bei den Jungen. Ein deutlicher Anstieg fällt erst zwischen dem 11.-12. und 13.-14. Lebensjahr auf. Die höchsten Mittelwerte betragen ca.  $2000 \mu\text{g/d}$  bei den 13.-14-jährigen ISS-Mädchen und ca.  $3000 \mu\text{g/d}$  bei den 13-14-jährigen Mädchen der Kontrollgruppe. Im Alter von 17-18 Jahren ist in beiden Gruppen ein leichter Abfall zu beobachten.

Der Verlauf der THE-Exkretion zeigt keine wesentlichen Geschlechtsunterschiede.

Auffällig sind die höheren Exkretionswerte bei den Jungen ab dem 11.-12. Lebensjahr.

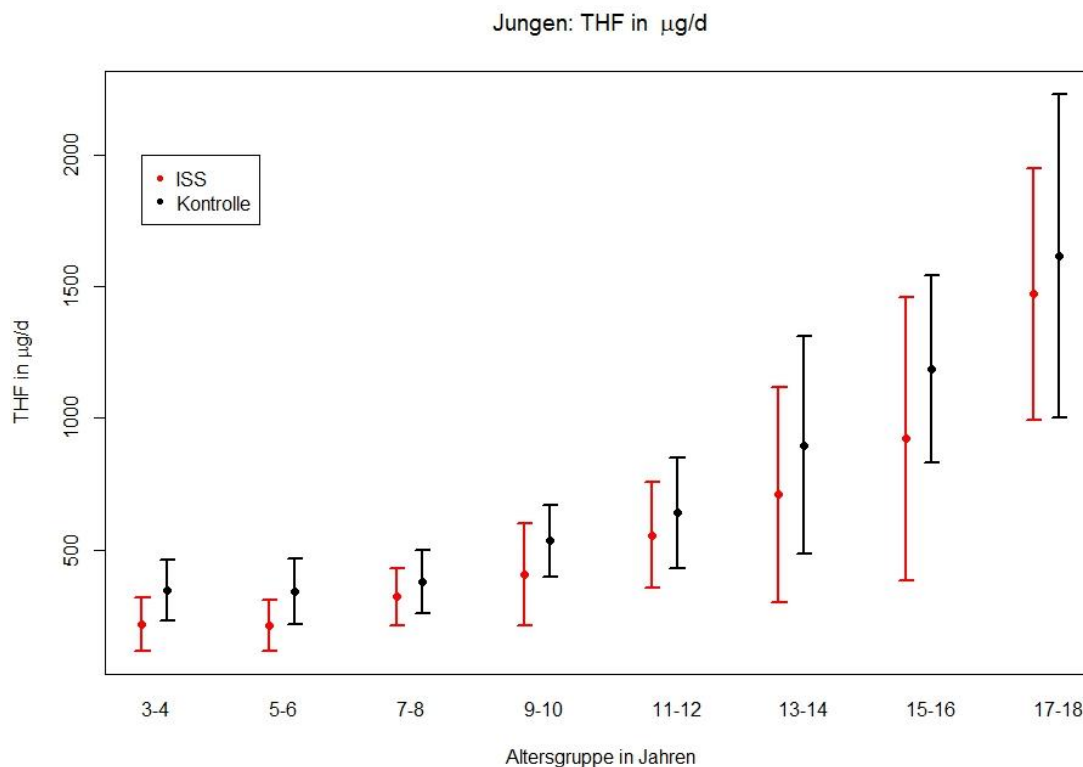
**Abbildung 29:** THE SDS**Tabelle 28:** THE SDS

Altersgruppe in Jahren	3-4	5-6	7-8	9-10	11-12	13-14	15-16	17-18	ISS gesamt
gültige Fallzahl n	6	14	15	35	25	31	29	8	163
Median	-0,92	-1,04	-0,46	-0,91	-0,97	-0,88	-0,60	-1,00	<b>-0,92</b>
p-Wert	0,001	0,001	0,236	0,11	< 0,001	0,007	0,055	0,126	<b>&lt; 0,001</b>

Der SDS-Median für THE liegt in allen Altersgruppen deutlich unter 0, wie dies auch die Gesamtheit der ISS-Probanden zeigt.

In den Altersgruppen 7-8 Jahre und 15-16 Jahre liegen die Mediane am höchsten. In den Altersgruppen dazwischen und danach, von 17-18 Jahren, ist ein leichter Abfall zu verzeichnen. In den Altersgruppen 3-6 Jahre sowie 11-14 Jahre ist der p-Wert signifikant. D.h. in diesen Altersgruppen ist die Exkretion signifikant niedriger als in den entsprechenden Altersgruppen der Kontrollgruppe.

Der p-Wert des gesamten ISS-Kollektivs ist mit < 0,001 hoch signifikant. Dies bedeutet, dass die Exkretion von THE bei den ISS-Probanden signifikant geringer ist als in der Kontrollgruppe.

Exkretionsraten der ISS-Probanden und der Kontrollgruppe für THF in  $\mu\text{g/d}$  – Jungen

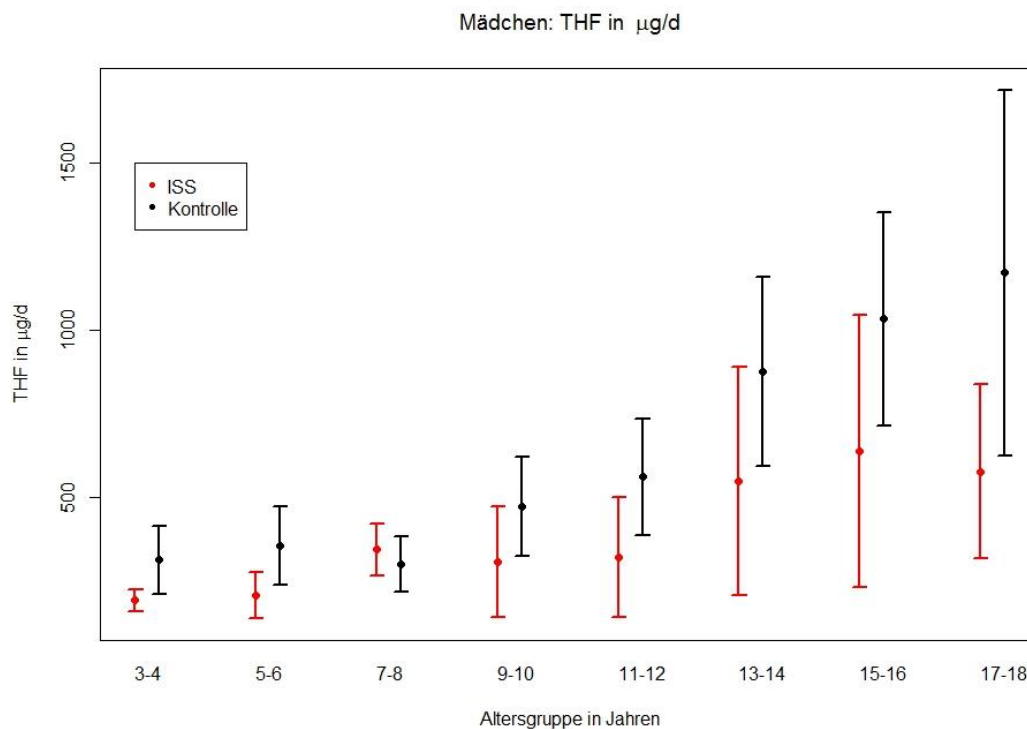
**Abbildung 30:** Exkretionsraten der ISS-Probanden und der Kontrollgruppe für THF in  $\mu\text{g/d}$  - Jungen

**Tabelle 29:** Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen (SD) der Exkretionsraten der ISS-Probanden und der Kontrollgruppe für THF in  $\mu\text{g/d}$  - Jungen

Altersgruppe in Jahren	3-4	5-6	7-8	9-10	11-12	13-14	15-16	17-18
ISS MW	217	213	322	406	555	709	922	1470
SD	102	96	107	194	200	409	537	478
Kontr. MW	345	342	378	534	640	897	1186	1616
SD	116	125	119	136	209	412	357	615

In beiden Gruppen zeigt sich ein stetiger Anstieg der Exkretionsrate für THF mit steigendem Alter. Vom 3. Bis 8. Lebensjahr ist der Anstieg relativ flach und die Werte liegen deutlich unter  $500 \mu\text{g/d}$ . Bei den 9-10-Jährigen ist der Anstieg etwas steiler. Die höchsten Mittelwerte liegen bei ca.  $1500 \mu\text{g/d}$  (ISS) und  $1600 \mu\text{g/d}$  (Kontrolle) bei den 17-18-Jährigen.



Exkretionsraten der ISS-Probanden und der Kontrollgruppe für THF in  $\mu\text{g/d}$  –Mädchen

**Abbildung 31:** Exkretionsraten der ISS-Probanden und der Kontrollgruppe für THF in  $\mu\text{g/d}$  - Mädchen

**Tabelle 30:** Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen (SD) der Exkretionsraten der ISS-Probanden und der Kontrollgruppe für THF in  $\mu\text{g/d}$  - Mädchen

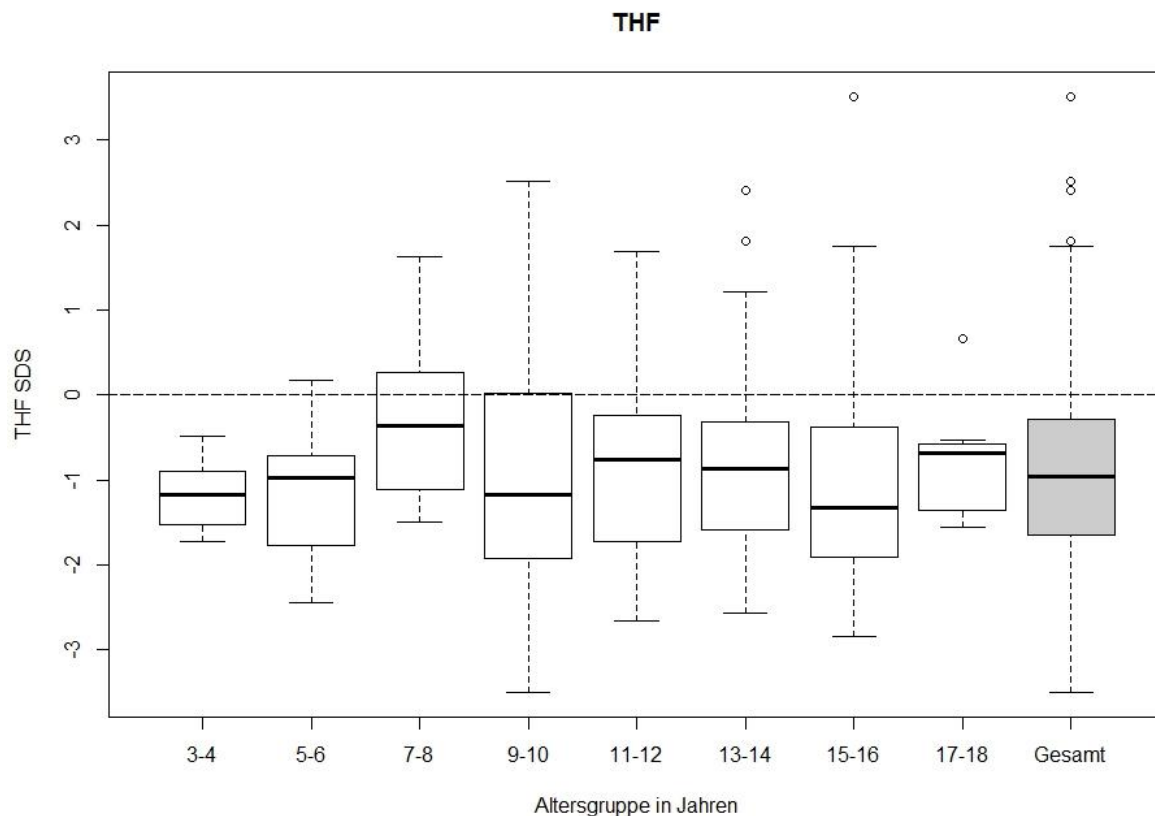
Altersgruppe in Jahren	3-4	5-6	7-8	9-10	11-12	13-14	15-16	17-18
ISS MW	192	206	344	306	321	549	639	577
SD	34	69	77	165	179	342	408	261
Kontr. MW	313	355	300	472	562	877	1033	1171
SD	102	118	83	148	174	282	319	548

Der Mittelwert liegt bis zum 8. Lebensjahr sowohl in der ISS- als auch in der Kontrollgruppe bei  $\leq 500 \mu\text{g/d}$ .

In der ISS-Gruppe ist ein deutlicher Anstieg erst ab dem 13.-14. Lebensjahr zu verzeichnen; in der Kontrollgruppe dagegen etwas früher, im 11.-12. Lebensjahr.

Der höchste Mittelwert liegt in der ISS-Gruppe im 15.-16. Lebensjahr bei ca.  $640 \mu\text{g/d}$  und fällt danach etwas ab. In der Kontrollgruppe liegt der höchste Mittelwert bei ca.  $1200 \mu\text{g/d}$  im 17.-18. Lebensjahr.

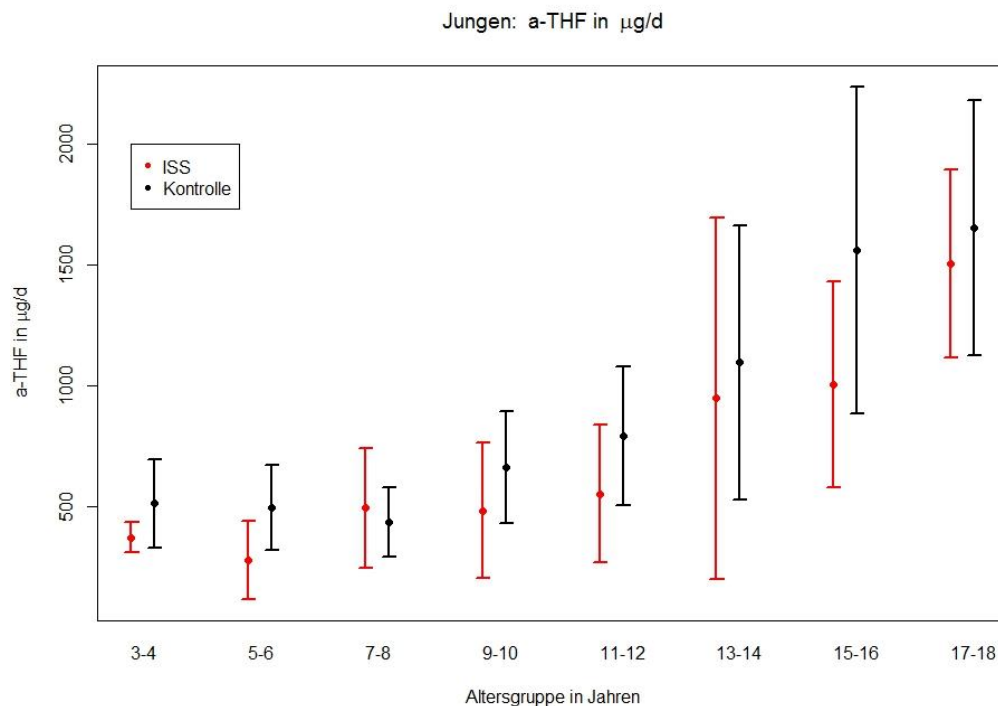
Es zeigen sich keine wesentlichen Geschlechtsunterschiede. Ab dem 11.-12. Lebensjahr liegen die Exkretionswerte bei den Jungen höher als bei den Mädchen.

**Abbildung 32:** THF SDS**Tabelle 31:** THF SDS

Altersgruppe in Jahren	3-4	5-6	7-8	9-10	11-12	13-14	15-16	17-18	ISS gesamt
gültige Fallzahl n	6	14	15	35	25	31	29	8	163
Median	-1,17	-0,97	-0,37	-1,17	-0,77	-0,87	-1,32	-0,69	<b>-0,96</b>
p-Wert	0,002	< 0,001	0,435	< 0,001	0,001	0,001	0,001	0,018	<b>&lt; 0,001</b>

Für THF liegen die SDS-Mediane in allen Altersgruppen unter 0. Bei den 7-8-Jährigen liegt der Median am höchsten, während er bei den 9-10-Jährigen bzw. 15-16-Jährigen am niedrigsten liegt. Der p-Wert ist, außer bei den 7-8-Jährigen, in allen Altersgruppen signifikant. D.h. in diesen Altersgruppen ist die Exkretion signifikant niedriger als in den entsprechenden Altersgruppen der Kontrollgruppe.

Die Gesamtheit der ISS-Probanden liegt mit dem SDS-Median für THE deutlich unter Null. Der p-Wert ist mit  $< 0,001$  hoch signifikant. Dies bedeutet, dass die THF-Exkretion bei den ISS-Probanden signifikant geringer ist als in der Kontrollgruppe.

Exkretionsraten der ISS-Probanden und der Kontrollgruppe für a-THF in  $\mu\text{g/d}$  - Jungen

**Abbildung 33:** Exkretionsraten der ISS-Probanden und der Kontrollgruppe für a-THF in  $\mu\text{g/d}$  - Jungen

**Tabelle 32:** Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen (SD) der Exkretionsraten der ISS-Probanden und der Kontrollgruppe für a-THF in  $\mu\text{g/d}$  - Jungen

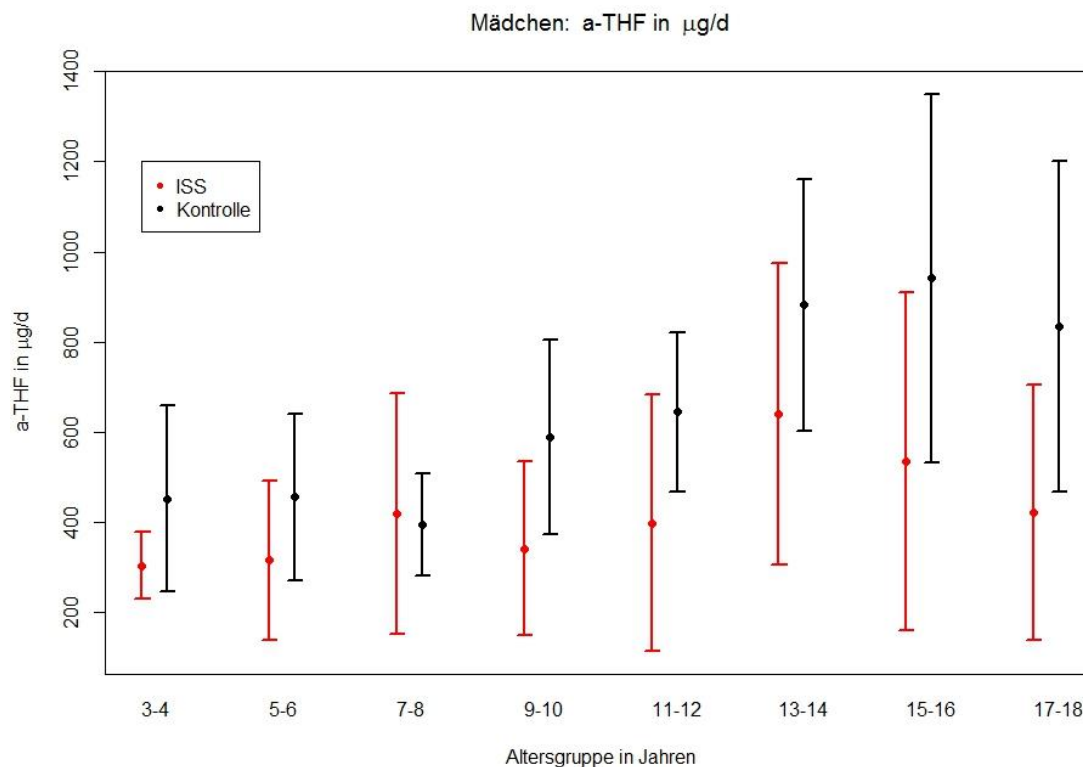
Altersgruppe in Jahren	3-4	5-6	7-8	9-10	11-12	13-14	15-16	17-18
ISS MW	373	277	494	484	553	948	1006	1507
SD	63	163	246	279	285	747	426	389
Kontr. MW	513	497	436	662	792	1096	1561	1654
SD	184	176	144	230	288	566	678	527

Der Verlauf der Exkretion ist ähnlich wie beim THF.

In der ISS-Gruppe wird der Mittelwert bis zu den 9-10-Jährigen unter  $500 \mu\text{g/d}$  gemessen. Bei den 11-12-Jährigen liegt er noch leicht über  $500 \mu\text{g/d}$  und steigt dann bei den 13-14-Jährigen deutlich bis auf ca.  $950 \mu\text{g/d}$  an. Der höchste Mittelwert liegt mit ca.  $1500 \mu\text{g/d}$  bei den 17-18-Jährigen .

In der Kontrollgruppe liegt der Mittelwert schon bei den 9-10-Jährigen deutlich über  $500 \mu\text{g/d}$ . Er steigt bis auf ca.  $1650 \mu\text{g/d}$  bei den 17-18-Jährigen an.

Insgesamt haben die Jungen höhere Exkretionswerte als die Mädchen.

Exkretionsraten der ISS-Probanden und der Kontrolle für a-THF in  $\mu\text{g/d}$  – Mädchen

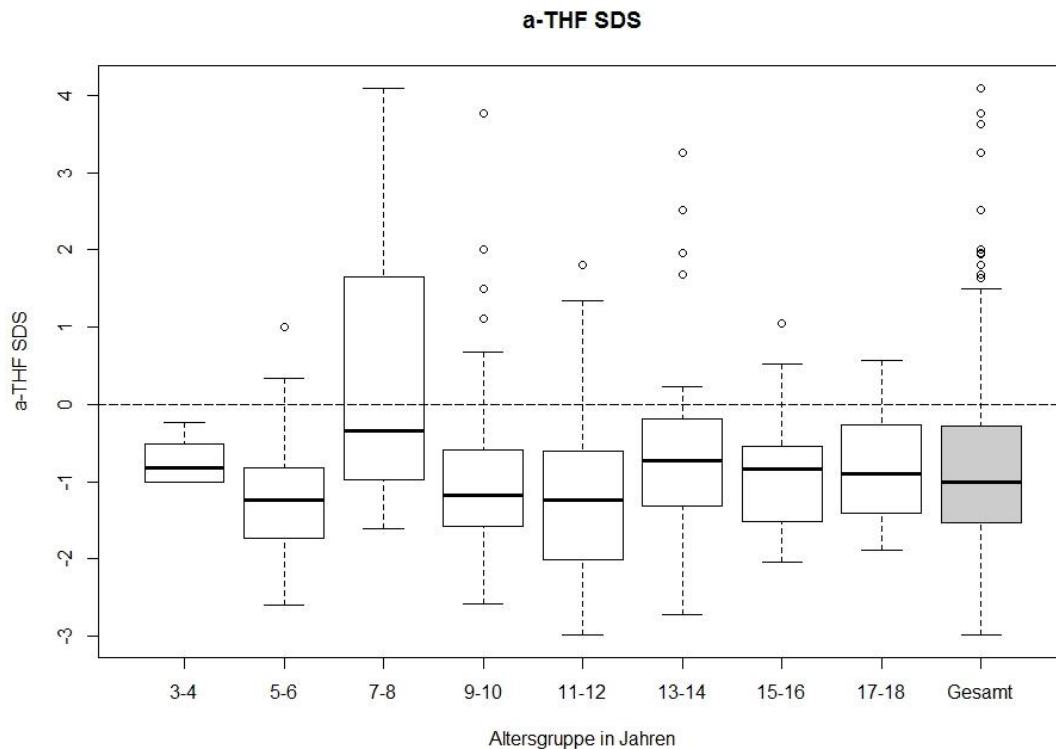
**Abbildung 34:** Exkretionsraten der ISS-Probanden und der Kontrollgruppe für a-THF in  $\mu\text{g/d}$  - Mädchen

**Tabelle 33:** Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen (SD) der Exkretionsraten der ISS-Probanden und der Kontrollgruppe für a-THF in  $\mu\text{g/d}$  - Mädchen

Altersgruppe in Jahren	3-4	5-6	7-8	9-10	11-12	13-14	15-16	17-18
<b>ISS MW</b>	<b>303</b>	<b>315</b>	<b>419</b>	<b>341</b>	<b>398</b>	<b>639</b>	<b>535</b>	<b>421</b>
<b>SD</b>	<b>74</b>	<b>178</b>	<b>267</b>	<b>192</b>	<b>285</b>	<b>334</b>	<b>376</b>	<b>283</b>
<b>Kontr. MW</b>	<b>452</b>	<b>455</b>	<b>395</b>	<b>589</b>	<b>644</b>	<b>882</b>	<b>942</b>	<b>834</b>
<b>SD</b>	<b>207</b>	<b>184</b>	<b>113</b>	<b>216</b>	<b>176</b>	<b>279</b>	<b>409</b>	<b>368</b>

In der ISS-Gruppe liegt der Mittelwert bis einschließlich 11-12-Jahren unter  $500 \mu\text{g/d}$ . Der höchste Mittelwert liegt bei den 13-14-Jährigen bei ca.  $600 \mu\text{g/d}$ . Danach fällt er bis auf ca.  $400 \mu\text{g/d}$  ab.

In der Kontrollgruppe liegt der Mittelwert bis zum 8. Lebensjahr zwischen  $400$  und  $450 \mu\text{g/d}$ . Bei den 9-10-Jährigen liegt er bei knapp  $600 \mu\text{g/d}$  und steigt bis auf ca.  $900 \mu\text{g/d}$  bei den 15-16-Jährigen an. Danach fällt er etwas ab.

**Abbildung 35:** a-THF SDS**Tabelle 34:** a-THF SDS

Altersgruppe in Jahren	3-4	5-6	7-8	9-10	11-12	13-14	15-16	17-18	ISS gesamt
gültige Fallzahl n	6	14	15	35	25	31	29	8	163
Median	-0,82	-1,24	-0,34	-1,17	-1,24	-0,73	-0,84	-0,89	<b>-1,00</b>
p-Wert	0,002	< 0,001	0,468	0,001	< 0,001	0,048	< 0,001	0,028	<b>&lt; 0,001</b>

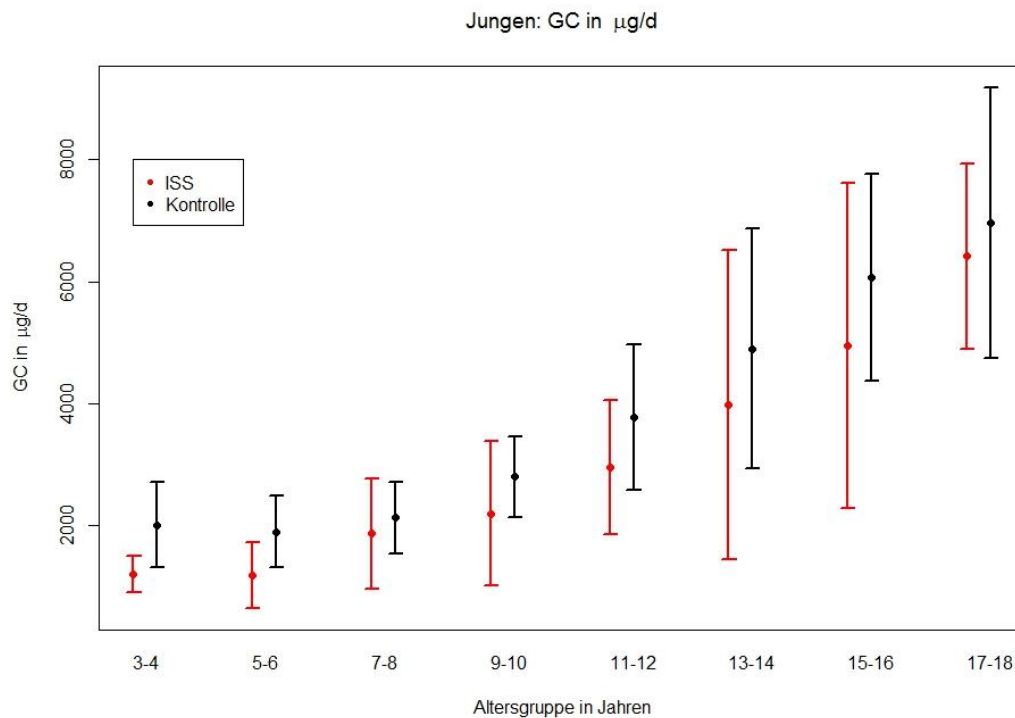
In allen Altersgruppen liegen die SDS-Mediane für a-THF deutlich  $< 0$ .

Von 9-12 Jahren liegt der Median im Vergleich zu den Altersgruppen 7-8 und 13-14 Jahre deutlich niedriger. Der p-Wert ist, außer bei den 7-8-Jährigen, in allen Altersgruppen signifikant. D.h. in diesen Altersgruppen ist die Exkretion signifikant niedriger als in den entsprechenden Altersgruppen der Kontrollgruppe.

Die Gesamtheit der ISS-Probanden liegt mit dem SDS-Median bei -1.

Der p-Wert für das Gesamtkollektiv ISS ist mit  $< 0,001$  hoch signifikant. Dies bedeutet, dass die a-THF-Exkretion bei den ISS-Probanden signifikant geringer ist als in der Kontrollgruppe.

Exkretionsraten der ISS-Probanden und der Kontrolle für die Summe der Glucocorticoidmetaboliten in  $\mu\text{g/d}$  (GC = THE+THF+a-THF) – Jungen



**Abbildung 36:** Exkretionsraten der ISS-Probanden und der Kontrollgruppe für GC in  $\mu\text{g/d}$  – Jungen

**Tabelle 35:** Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen (SD) der Exkretionsraten der ISS-Probanden und der Kontrollgruppe für GC in  $\mu\text{g/d}$  – Jungen

Altersgruppe in Jahren	3-4	5-6	7-8	9-10	11-12	13-14	15-16	17-18
<b>ISS MW</b>	<b>1195</b>	<b>1175</b>	<b>1867</b>	<b>2198</b>	<b>2951</b>	<b>3983</b>	<b>4948</b>	<b>6417</b>
<b>SD</b>	295	539	903	1180	1106	2540	2664	1515
<b>Kontr. MW</b>	<b>2010</b>	<b>1898</b>	<b>2132</b>	<b>2795</b>	<b>3775</b>	<b>4898</b>	<b>6066</b>	<b>6967</b>
<b>SD</b>	697	589	588	653	1197	1972	1702	2224

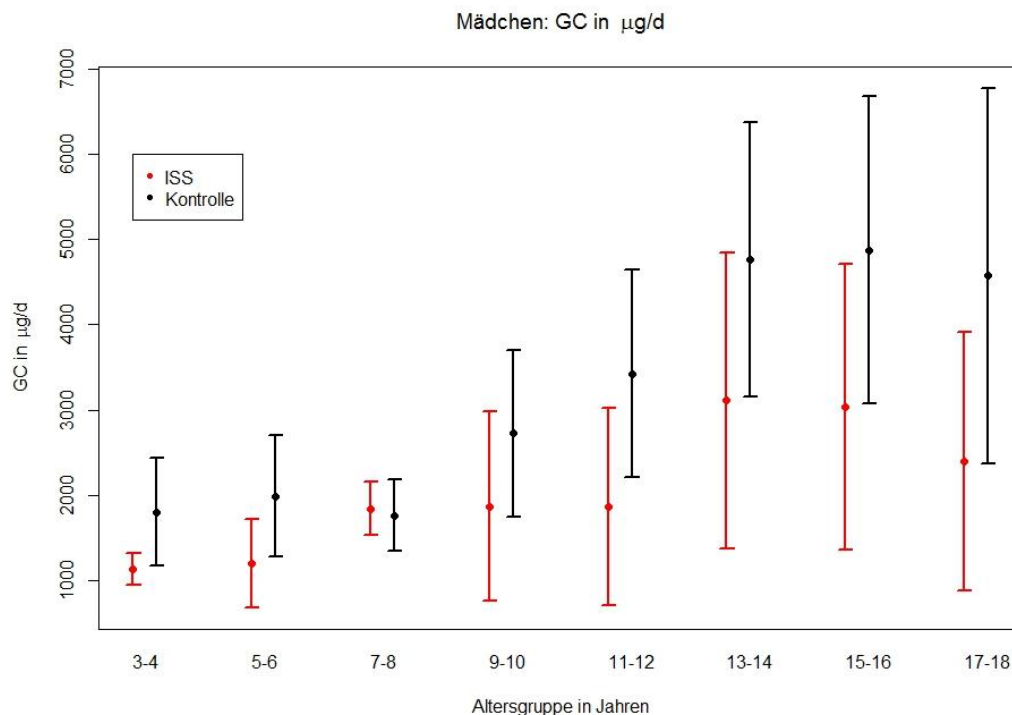
In beiden Gruppen zeigt sich mit steigendem Alter eine steigende Exkretionsrate für die Glucocorticoide.

In der ISS-Gruppe liegt der Mittelwert bis zum einschließlich 8. Lebensjahr bei  $\leq 2000 \mu\text{g/d}$  und steigt dann ab dem 9. Lebensjahr stetig bis auf ca.  $6400 \mu\text{g/d}$  bei den 17-18-Jährigen an.

In der Kontrollgruppe liegt der Mittelwert bis zum einschließlich 8. Lebensjahr bei ca. 2000  $\mu\text{g/d}$ . Ab dem 9. Lebensjahr steigt der Wert bis auf knapp 7000  $\mu\text{g/d}$  bei den 17-18-Jährigen an.



Exkretionsraten der ISS-Probanden und der Kontrolle für die Summe der Glucocorticoidmetaboliten in  $\mu\text{g/d}$  (GC = THE+THF+a-THF) – Mädchen



**Abbildung 37:** Exkretionsraten der ISS-Probanden und der Kontrollgruppe für GC in  $\mu\text{g/d}$  - Mädchen

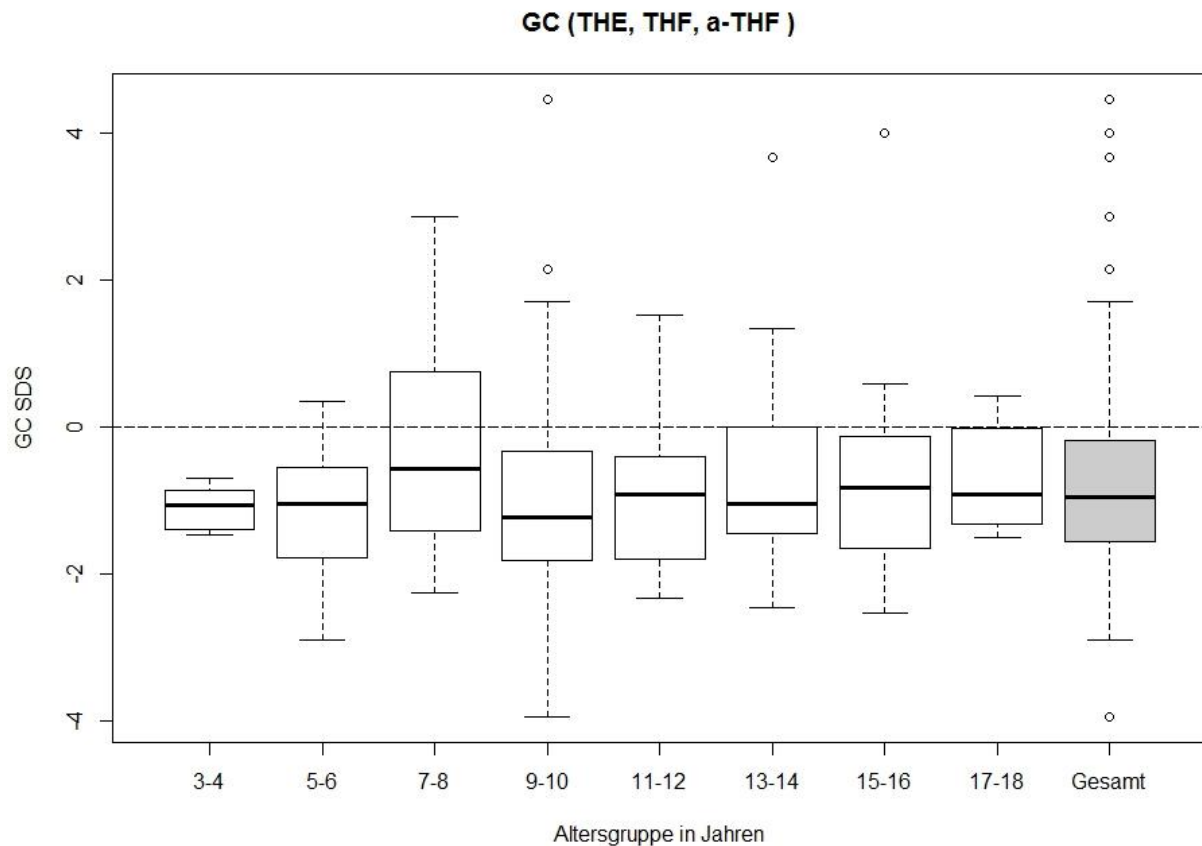
**Tabelle 36:** Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen (SD) der Exkretionsraten der ISS-Probanden und der Kontrollgruppe für GC in  $\mu\text{g/d}$  - Mädchen

Altersgruppe in Jahren	3-4	5-6	7-8	9-10	11-12	13-14	15-16	17-18
<b>ISS MW</b>	<b>1134</b>	<b>1195</b>	<b>1842</b>	<b>1869</b>	<b>1863</b>	<b>3108</b>	<b>3032</b>	<b>2396</b>
<b>SD</b>	<b>185</b>	<b>519</b>	<b>313</b>	<b>1111</b>	<b>1151</b>	<b>1740</b>	<b>1677</b>	<b>1516</b>
<b>Kontr. MW</b>	<b>1802</b>	<b>1987</b>	<b>1762</b>	<b>2724</b>	<b>3424</b>	<b>4766</b>	<b>4871</b>	<b>4571</b>
<b>SD</b>	<b>629</b>	<b>716</b>	<b>423</b>	<b>975</b>	<b>1219</b>	<b>1607</b>	<b>1804</b>	<b>2206</b>

In der ISS-Gruppe liegt der Mittelwert für die GC-Exkretion bis zum einschließlich 12. Lebensjahr bei  $\leq 2000 \mu\text{g/d}$ . Erst bei den 13-16-Jährigen liegt der Mittelwert bei ca.  $3000 \mu\text{g/d}$  und fällt bei den 17-18-Jährigen dann leicht ab auf ca.  $2400 \mu\text{g/d}$ .

In der Kontrollgruppe liegt der Wert bis zum einschließlich 8. Lebensjahr bei  $\leq 2000 \mu\text{g/d}$ . Ab 9-10-Jahren steigt der Mittelwert stetig bis auf ca.  $4800 \mu\text{g/d}$  bei den 13-16-Jährigen an und fällt danach leicht ab.

Der Geschlechtsunterschied ist ab dem 13.-14. Lebensjahr zu verzeichnen: Die GC-Exkretionsrate fällt bei den Mädchen ab diesem Alter ab, während sie bei den Jungen stetig steigt.

**Abbildung 38:** GC SDS**Tabelle 37:** SDS

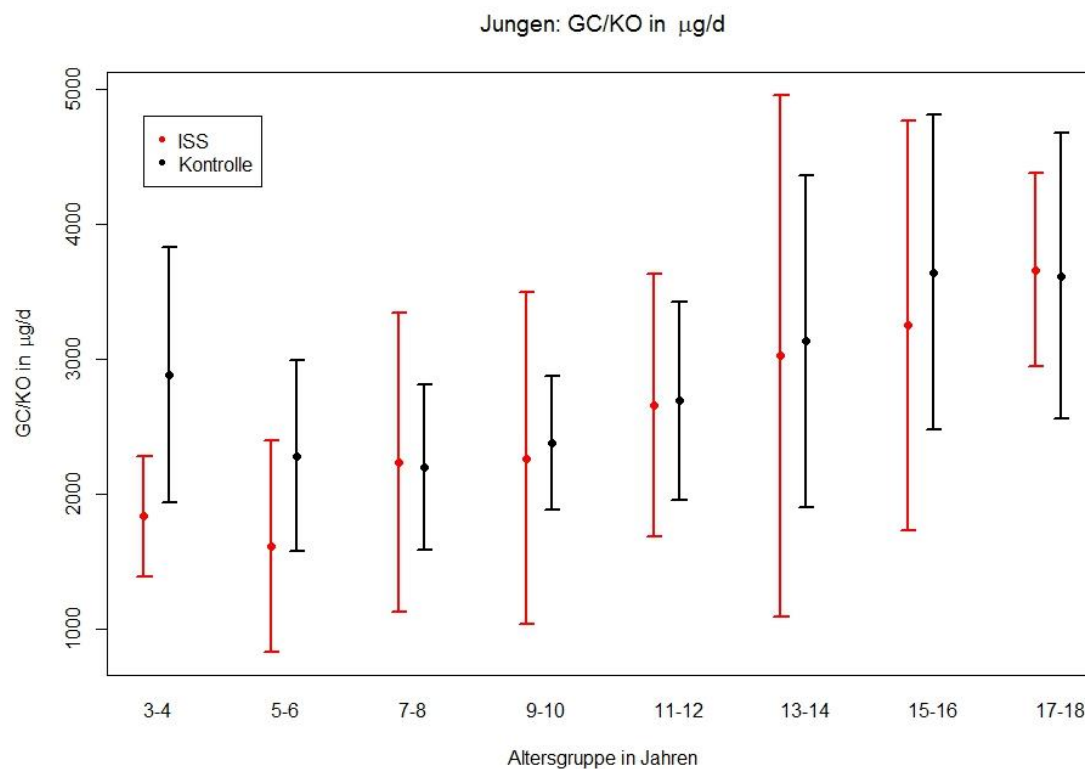
Altersgruppe in Jahren	3-4	5-6	7-8	9-10	11-12	13-14	15-16	17-18	ISS gesamt
<b>gültige Fallzahl n</b>	6	14	15	35	25	31	29	8	163
<b>Median</b>	-1,07	-1,05	-0,58	-1,24	-0,92	-1,05	-0,84	-0,93	<b>-0,97</b>
<b>p-Wert</b>	< 0,001	< 0,001	0,443	0,004	< 0,001	0,005	0,002	0,030	<b>&lt; 0,001</b>

In allen Altersgruppen liegen die SDS-Mediane für die Glucocorticoide deutlich  $< 0$ .

Dies zeigt auch die Gesamtheit der ISS-Probanden. Der p-Wert ist, außer bei den 7-8-Jährigen, in allen Altersgruppen signifikant. D.h. in diesen Altersgruppen ist die Exkretion signifikant niedriger als in den entsprechenden Altersgruppen der Kontrollgruppe.

Der p-Wert für das Gesamtkollektiv ISS ist mit  $< 0,001$  hoch signifikant. Dies bedeutet, dass die Exkretion für die Summe der Glucocorticoide bei den ISS-Probanden signifikant geringer ist als in der Kontrollgruppe.

Exkretionsraten der ISS-Probanden und der Kontrollgruppe für die Summe der Glucocorticoidmetaboliten in  $\mu\text{g/d}$ , auf die Körperoberfläche bezogen – Jungen



**Abbildung 39:** Exkretionsraten der ISS-Probanden und der Kontrollgruppe für GC/KO in  $\mu\text{g/d}$  - Jungen

**Tabelle 38:** Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen (SD) der Exkretionsraten der ISS-Probanden und der Kontrollgruppe für GC/KO in  $\mu\text{g/d}$  - Jungen

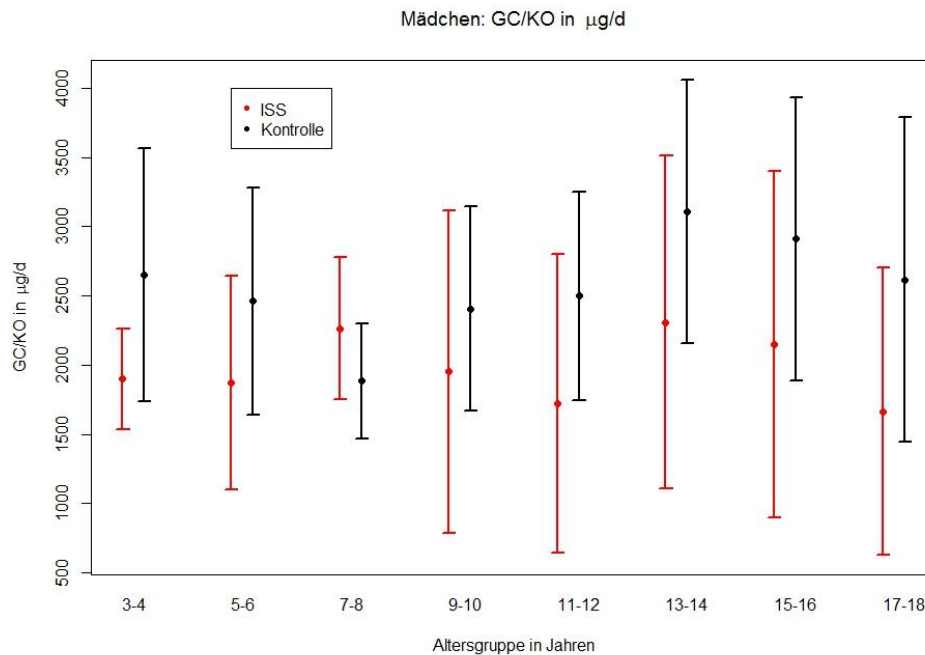
Altersgruppe in Jahren	3-4	5-6	7-8	9-10	11-12	13-14	15-16	17-18
<b>ISS MW</b>	<b>1835</b>	<b>1611</b>	<b>2232</b>	<b>2266</b>	<b>2658</b>	<b>3023</b>	<b>3249</b>	<b>3661</b>
<b>SD</b>	<b>449</b>	<b>782</b>	<b>1107</b>	<b>1227</b>	<b>968</b>	<b>1933</b>	<b>1515</b>	<b>716</b>
<b>Kontr. MW</b>	<b>2881</b>	<b>2283</b>	<b>2197</b>	<b>2376</b>	<b>2692</b>	<b>3132</b>	<b>3642</b>	<b>3616</b>
<b>SD</b>	<b>947</b>	<b>708</b>	<b>614</b>	<b>495</b>	<b>735</b>	<b>1230</b>	<b>1167</b>	<b>1061</b>

Der Exkretionsverlauf zeigt bei den ISS-Probanden eine tendenzielle Steigerung mit dem Alter. In der Kontrollgruppe dagegen kommt es zunächst zu einem leichten Abfall mit einem Tiefpunkt im 7.-8. Lebensjahr. Danach kommt es wieder zum Anstieg.

Der Mittelwert für die Exkretionsraten liegt in der ISS-Gruppe bei den 3-6-Jährigen zwischen 1000 und 2000  $\mu\text{g/d}$ . Bis zum 10. Lebensjahr steigt er bis auf ca. 2300  $\mu\text{g/d}$  und im weiteren Verlauf bis auf ca. 3700  $\mu\text{g/d}$  bei den 17-18-Jährigen an.

In der Kontrollgruppe liegt der Mittelwert bis zum 12. Lebensjahr zwischen 2000 und 3000  $\mu\text{g/d}$ . Dann steigt er an und erreicht bei den 15-18-Jährigen ein Maximum bei ca. 3600  $\mu\text{g/d}$ .

Exkretionsraten der ISS-Probanden und der Kontrollgruppe für die Summe der Glucocorticoidmetaboliten in  $\mu\text{g/d}$ , bezogen auf die Körperoberfläche – Mädchen



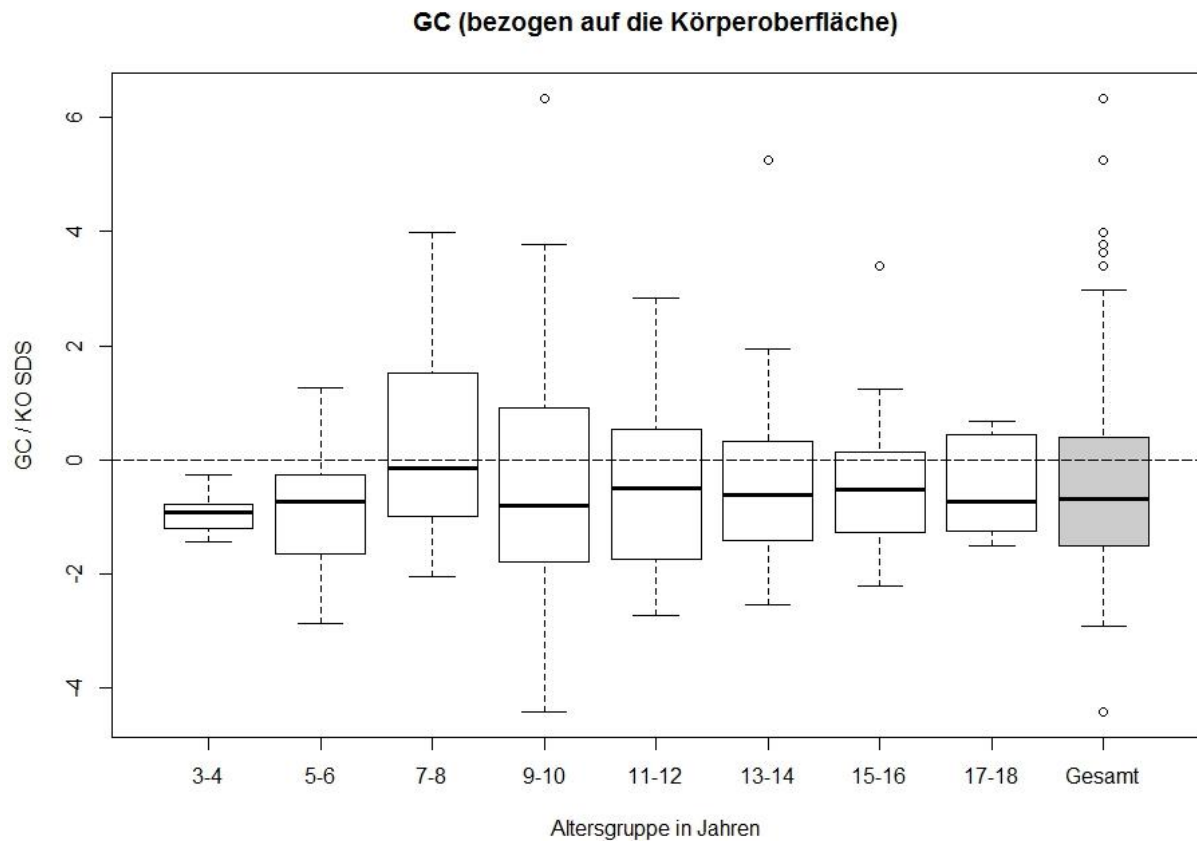
**Abbildung 40:** Exkretionsraten der ISS-Probanden und der Kontrollgruppe für GC/KO in  $\mu\text{g/d}$  – Mädchen

**Tabelle 39:** Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen (SD) der Exkretionsraten der ISS-Probanden und der Kontrollgruppe für GC/KO in  $\mu\text{g/d}$  – Mädchen

Altersgruppe in Jahren	3-4	5-6	7-8	9-10	11-12	13-14	15-16	17-18
<b>ISS MW</b>	<b>1899</b>	<b>1874</b>	<b>2263</b>	<b>1952</b>	<b>1722</b>	<b>2307</b>	<b>2149</b>	<b>1664</b>
<b>SD</b>	<b>363</b>	<b>772</b>	<b>512</b>	<b>1165</b>	<b>1079</b>	<b>1203</b>	<b>1251</b>	<b>1039</b>
<b>Kontr. MW</b>	<b>2651</b>	<b>2462</b>	<b>1885</b>	<b>2406</b>	<b>2500</b>	<b>3109</b>	<b>2910</b>	<b>2616</b>
<b>SD</b>	<b>912</b>	<b>821</b>	<b>416</b>	<b>739</b>	<b>753</b>	<b>955</b>	<b>1025</b>	<b>1174</b>

Bei den ISS-Mädchen zeigt sich kein Anstieg mit dem Alter wie bei den ISS-Jungen. Die Mittelwerte schwanken nicht stark. In der Kontrolle zeigt sich wieder zunächst ein Abfall mit einem Tiefpunkt bei den 7-8-Jährigen. Den Mädchen der ISS- und der Kontrollgruppe ist gemeinsam, dass sie, im Gegensatz zu den Jungen, im weiteren Verlauf mit der Exkretion etwas abfallen. Wie bei den ISS-Jungen geht auch bei den ISS-Mädchen der Mittelwert bei den 3-6-Jährigen nicht über  $2000 \mu\text{g/d}$  hinaus. Bei den 7-8-Jährigen liegt er bei ca.  $2300 \mu\text{g/d}$ , was auch der höchste Mittelwert ist. In der

Kontrollgruppe liegt der Mittelwert bis zum 12. Lebensjahr zwischen 2000 und 2700  $\mu\text{g/d}$ . Der höchste Mittelwert wird von den 13-14-Jährigen mit ca. 3100  $\mu\text{g/d}$  erreicht.

**Abbildung 41:** GC/KO SDS**Tabelle 40:** GC/KO SDS

Altersgruppe in Jahren	3-4	5-6	7-8	9-10	11-12	13-14	15-16	17-18	ISS gesamt
gültige Fallzahl n	6	14	15	35	25	31	29	8	163
Median	-0,91	-0,73	-0,14	-0,80	-0,49	-0,62	-0,52	-0,74	<b>-0,69</b>
p-Wert	0,003	0,007	0,52	0,385	0,068	0,195	0,036	0,158	<b>0,001</b>

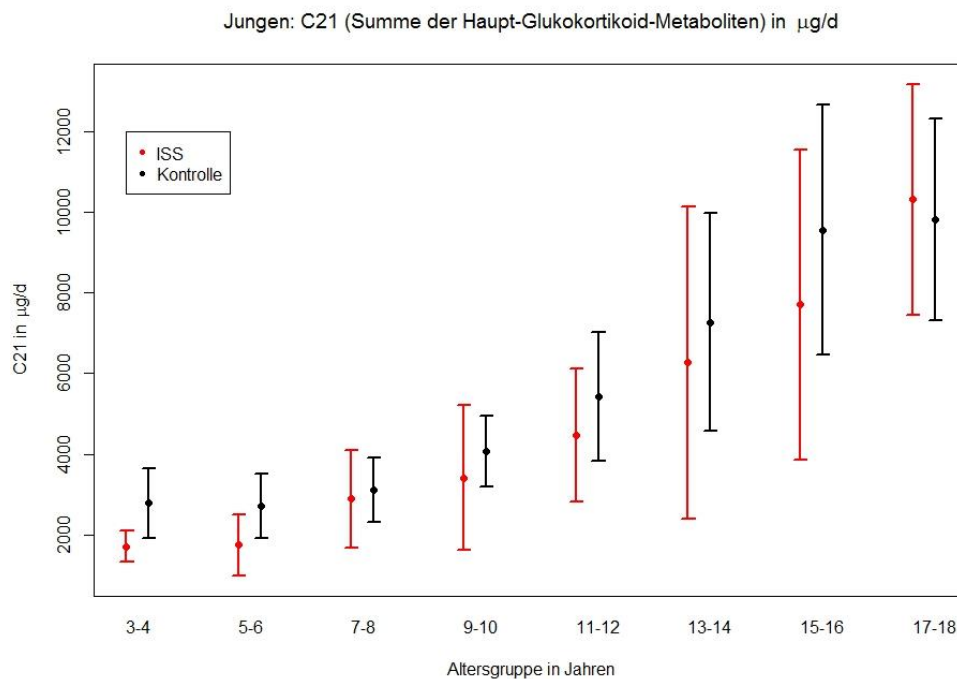
Es zeigt sich kein wesentlicher Unterschied zu den Berechnungen ohne Bezug auf die Körperoberfläche.

Alle Altersgruppen der ISS-Probanden liegen mit den SDS-Medianen  $< 0$ . Allerdings zeigen sich die p-Werte hier nur in den Altersgruppen 3-4 Jahre, 5-6 Jahre sowie 15-16 Jahre signifikant.

Im ISS Gesamtkollektiv liegt der Median ebenfalls unter Null. Der p-Wert ist mit 0,001 signifikant. Dies bedeutet, dass die Exkretion der Summe der Glucocorticoide bezogen auf die Körperoberfläche bei den ISS-Probanden signifikant geringer ist als in der Kontrollgruppe.



Exkretionsraten der ISS-Probanden und der Kontrollgruppe für C21 (Summe der Haupt-Glucocorticoid-Metaboliten) in  $\mu\text{g/d}$  – Jungen



**Abbildung 42:** Exkretionsraten der ISS-Probanden und der Kontrollgruppe für C21 in  $\mu\text{g/d}$ - Jungen

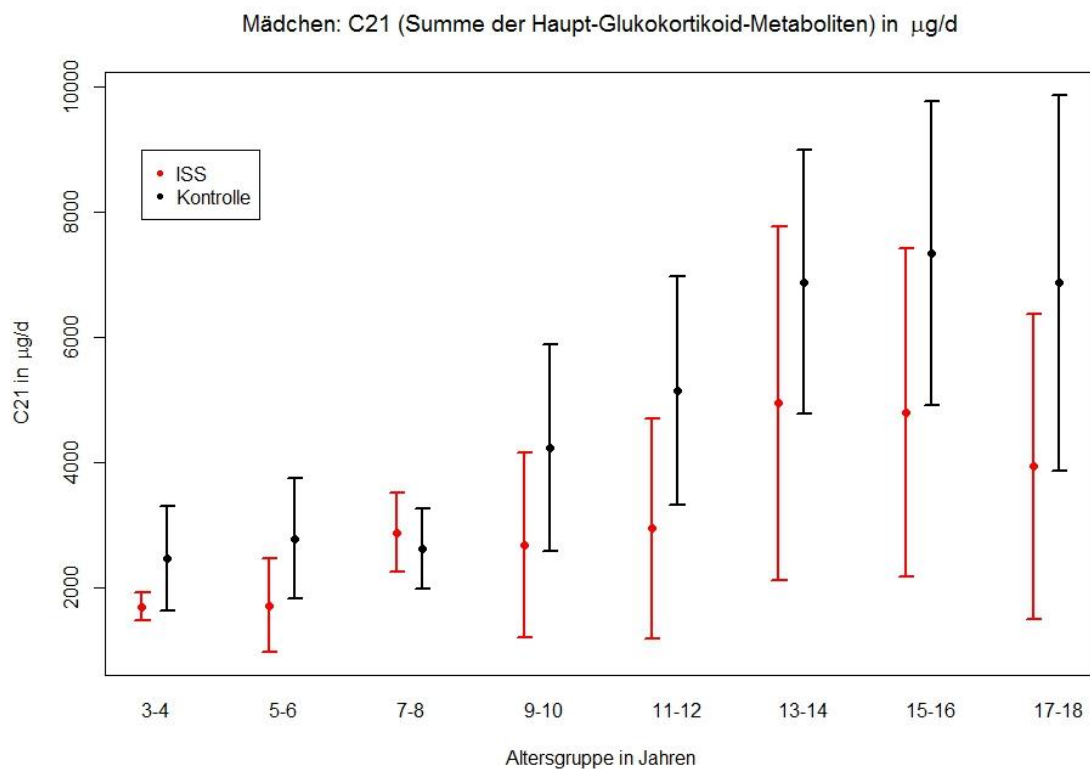
**Tabelle 41:** Mittelwerte und Standardabweichungen (SD) der Exkretionsraten der ISS-Probanden und der Kontrollgruppe für C21 in  $\mu\text{g/d}$ - Jungen

Altersgruppe in Jahren	3-4	5-6	7-8	9-10	11-12	13-14	15-16	17-18
<b>ISS MW</b>	<b>1711</b>	<b>1742</b>	<b>2887</b>	<b>3412</b>	<b>4460</b>	<b>6274</b>	<b>7704</b>	<b>10322</b>
<b>SD</b>	<b>388</b>	<b>768</b>	<b>1218</b>	<b>1801</b>	<b>1646</b>	<b>3873</b>	<b>3837</b>	<b>2864</b>
<b>Kontr. MW</b>	<b>2781</b>	<b>2709</b>	<b>3106</b>	<b>4068</b>	<b>5428</b>	<b>7275</b>	<b>9560</b>	<b>9818</b>
<b>SD</b>	<b>859</b>	<b>804</b>	<b>806</b>	<b>889</b>	<b>1595</b>	<b>2692</b>	<b>3101</b>	<b>2502</b>

Sowohl in der ISS- als auch in der Kontrollgruppe zeigt sich bei den Jungen ein stetiger Anstieg für die Exkretion von C21 mit steigendem Alter.

In der ISS-Gruppe liegt der Mittelwert bei den 3-6-Jährigen noch unter  $2000 \mu\text{g/d}$ , während er in der Kontrollgruppe deutlich darüber liegt. Ein Anstieg des Mittelwerts über  $4000 \mu\text{g/d}$  zeigt sich in der ISS-Gruppe bei den 11-12-Jährigen. In der Kontrollgruppe dagegen ist dies bereits bei den 9-10-Jährigen zu beobachten ist.

Exkretionsraten der ISS-Probanden und der Kontrollgruppe für C21 (Summe der Haupt-Glucocorticoid-Metaboliten) in  $\mu\text{g/d}$  -Mädchen



**Abbildung 43:** Exkretionsraten der ISS-Probanden und der Kontrollgruppe für C21 in  $\mu\text{g/d}$ - Mädchen

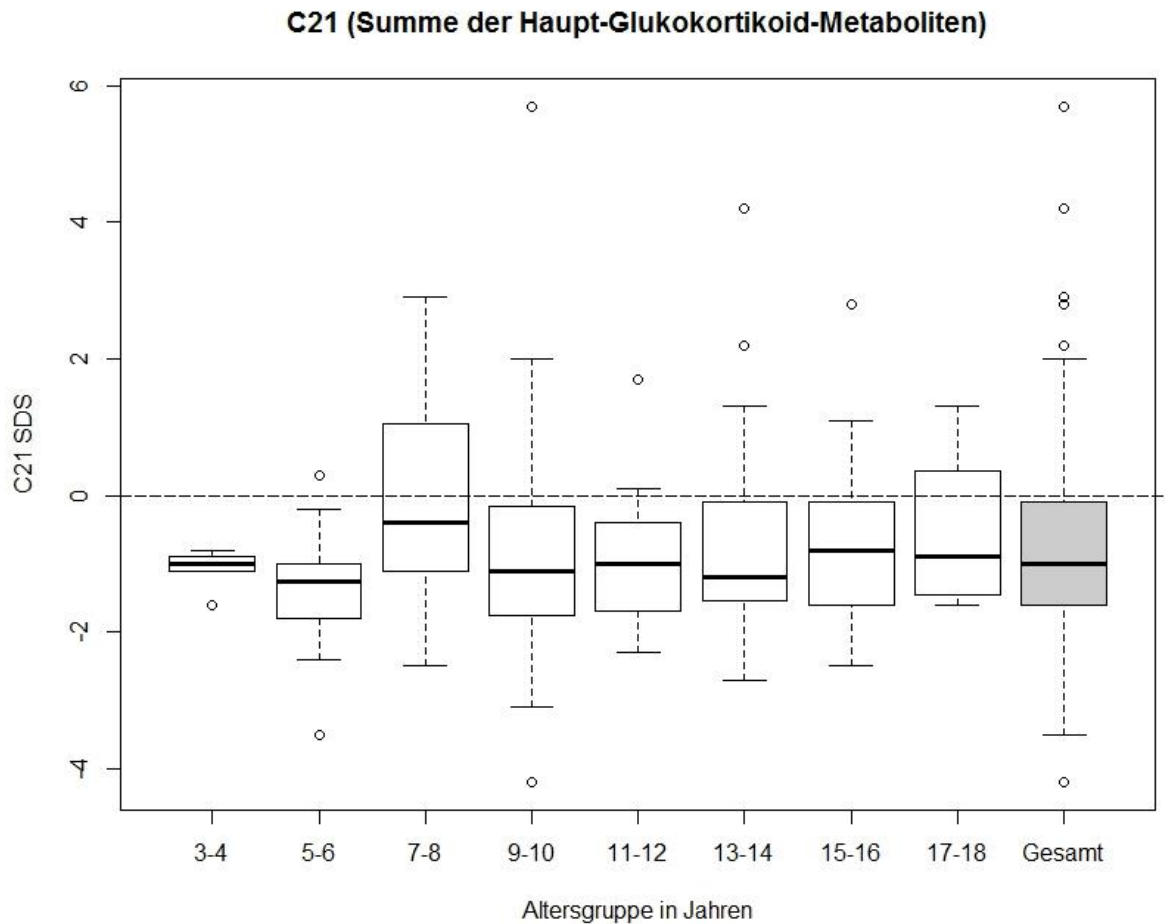
**Tabelle 42:** Mittelwerte und Standardabweichungen (SD) der Exkretionsraten der ISS-Probanden und der Kontrollgruppe für C21 in  $\mu\text{g/d}$ - Mädchen

Altersgruppe in Jahren	3-4	5-6	7-8	9-10	11-12	13-14	15-16	17-18
ISS MW	1697	1718	2880	2679	2944	4943	4790	3934
SD	217	750	635	1474	1755	2831	2619	2432
Kontr. MW	2471	2784	2622	4234	5139	6880	7348	6870
SD	836	958	640	1648	1823	2108	2425	3003

Bei den Mädchen ist der Anstieg der Exkretion für C21 nicht so stetig wie bei den Jungen.

In der ISS-Gruppe liegt der Mittelwert bei den 3-6-Jährigen noch unterhalb von 2000  $\mu\text{g/d}$ , in der Kontrolle dagegen deutlich höher. Zudem liegt der Mittelwert in der Kontrolle bereits bei den 9-10-Jährigen deutlich über 4000  $\mu\text{g/d}$ . In der ISS-Gruppe dagegen steigt der Mittelwert erst bei den 13-14-Jährigen deutlich an und ist mit knapp 5000  $\mu\text{g/d}$  auch der höchste Mittelwert, der in dieser Gruppe erreicht wird. Die

Probanden der Kontrollgruppe erreichen mit ca. 7300 µg/d einen deutlich höheren Höchstwert bei den 15-16-Jährigen. Auffällig in beiden Gruppen ist ein leichter Abfall des Mittelwerts bei den 17-18-Jährigen, was bei den Jungen nicht zu beobachten ist.

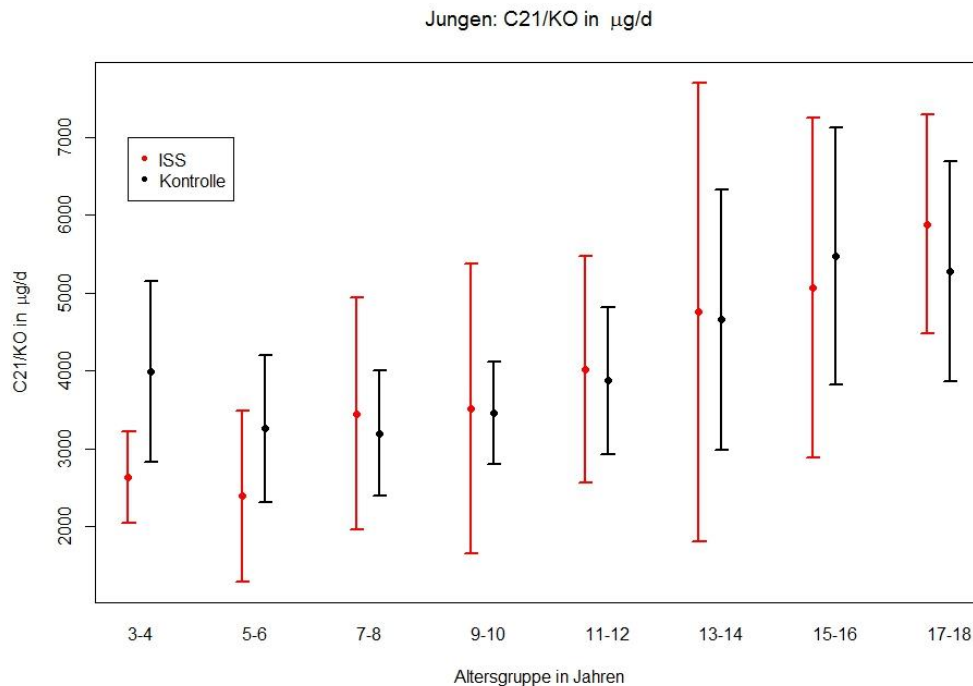
**Abbildung 44:** C21 SDS**Tabelle 43:** C21 SDS

Altersgruppe in Jahren	3-4	5-6	7-8	9-10	11-12	13-14	15-16	17-18	ISS gesamt
gültige Fallzahl n	6	14	15	35	25	31	29	8	163
Median	-1,02	-1,27	-0,41	-1,13	-0,96	-1,16	-0,83	-0,89	<b>-1,00</b>
p-Wert	< 0,001	< 0,001	0,693	0,009	< 0,001	0,017	0,001	0,196	<b>&lt; 0,001</b>

Die SDS-Mediane liegen in allen Altersgruppen unterhalb  $<0$ . Bei den 7-8-Jährigen liegt er mit -0,4 am höchsten, bei den 13-14-Jährigen mit -1,2 am niedrigsten. Der p-Wert ist in den meisten Altersgruppen signifikant außer bei den 7-8-Jährigen und bei den 17-18-Jährigen.

Die Gesamtheit der ISS-Probanden liegt ebenfalls deutlich unterhalb von 0. Der p-Wert ist mit 0,001 signifikant. Dies bedeutet, die Exkretionsraten für C21 bei den ISS-Probanden sind signifikant niedriger als in der Kontrollgruppe.

### Exkretionsraten der ISS-Probanden und der Kontrollgruppe für C21 auf die Körperoberfläche bezogen – Jungen



**Abbildung 45:** Exkretionsraten von C21/KO in  $\mu\text{g/d}$  bei den ISS-Probanden und in der Kontrollgruppe - Jungen

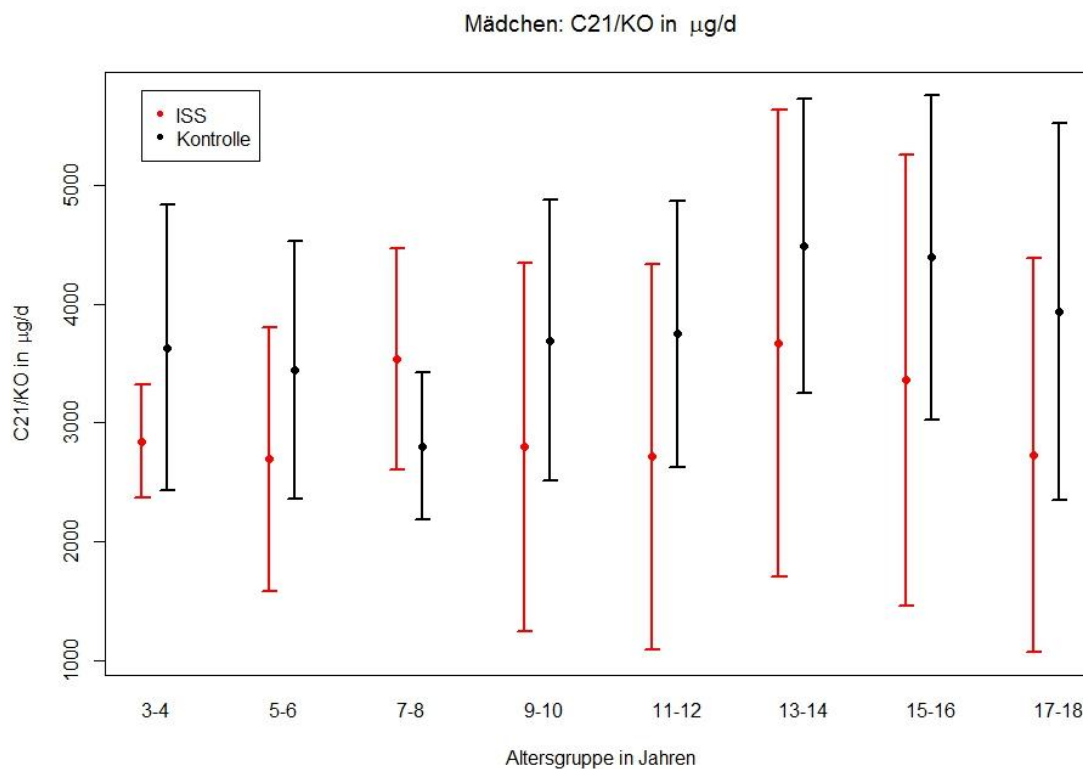
**Tabelle 44:** Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen (SD) für die Exkretionsraten von C21/KO in  $\mu\text{g/d}$  bei den ISS-Probanden und in der Kontrollgruppe - Jungen

Altersgruppe in Jahren	3-4	5-6	7-8	9-10	11-12	13-14	15-16	17-18
<b>ISS MW</b>	<b>2627</b>	<b>2387</b>	<b>3450</b>	<b>3517</b>	<b>4021</b>	<b>4759</b>	<b>5065</b>	<b>5885</b>
<b>SD</b>	589	1104	1496	1862	1456	2948	2188	1408
<b>Kontr. MW</b>	<b>3991</b>	<b>3255</b>	<b>3193</b>	<b>3455</b>	<b>3871</b>	<b>4655</b>	<b>5474</b>	<b>5275</b>
<b>SD</b>	1167	949	804	659	949	1679	1648	1414

In der Kontrollgruppe zeigt sich zunächst ein leichter Abfall mit einem Tiefpunkt bei den 7-8-Jährigen. Danach steigen die Werte stetig an. In der ISS-Gruppe dagegen lässt sich kein eindeutiger initialer Abfall erkennen. In beiden Kollektiven liegen die Werte im Alter von 3-8 Jahren höher als für C21 ohne Bezug auf die Körperoberfläche, während sie bei den 9-18-Jährigen niedriger liegen.

Anders als bei C21 ohne Bezug auf die Körperoberfläche zeigen die ISS-Jungen hier keine Verzögerung des Exkretionsanstiegs im Vergleich zu den Jungen der Kontrollgruppe.

Exkretionsraten der ISS-Probanden und der Kontrollgruppe für C21 auf die Körperoberfläche bezogen – Mädchen



**Abbildung 46:** Exkretionsraten von C21/KO in  $\mu\text{g/d}$  bei den ISS-Probanden und in der Kontrollgruppe - Mädchen

**Tabelle 45:** Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen (SD) für die Exkretionsraten von C21/KO in  $\mu\text{g/d}$  bei den ISS-Probanden und in der Kontrollgruppe - Mädchen

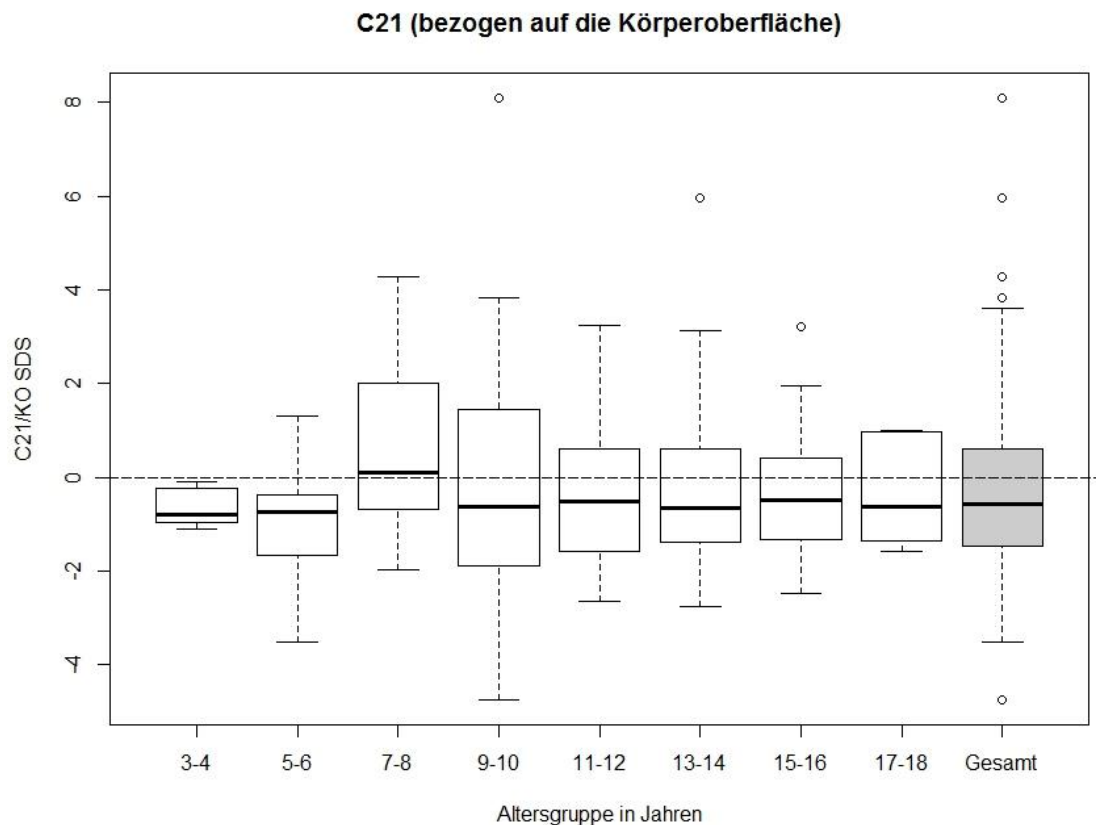
Altersgruppe in		3-4	5-6	7-8	9-10	11-12	13-14	15-16	17-18
Jahren									
ISS MW		2845	2692	3539	2796	2714	3670	3358	2727
SD		474	1112	929	1549	1627	1968	1904	1661
Kontr. MW		3634	3446	2804	3694	3747	4490	4393	3939
SD		1205	1082	623	1184	1125	1242	1371	1586

Auch bei den Mädchen der Kontrollgruppe zeigt sich initial ein Abfall der Werte mit einem Tiefpunkt bei den 7-8-Jährigen. Bei den ISS-Mädchen lässt sich kein eindeutiger initialer Abfall der Werte erkennen, jedoch zeigt sich ein Tiefpunkt bei den 9-12-Jährigen.

Wie bei den Jungen sieht man auch hier, dass die Werte bei den 3-8-Jährigen höher liegen, wenn sie auf die Körperoberfläche bezogen werden. Der Anstieg ist nicht so

stetig wie bei C21. In den höheren Altersgruppen fallen bei den Mädchen beider Kollektive die Werte sogar leicht ab, während sie bei den Jungen weiter ansteigen. Wie bei den Jungen auch sieht man hier keine Verzögerung des Exkretionsanstiegs bei den ISS-Mädchen im Vergleich zu den Mädchen der Kontrollgruppe.



**Abbildung 47:** C21/KO SDS**Tabelle 46:** C21/KO SDS

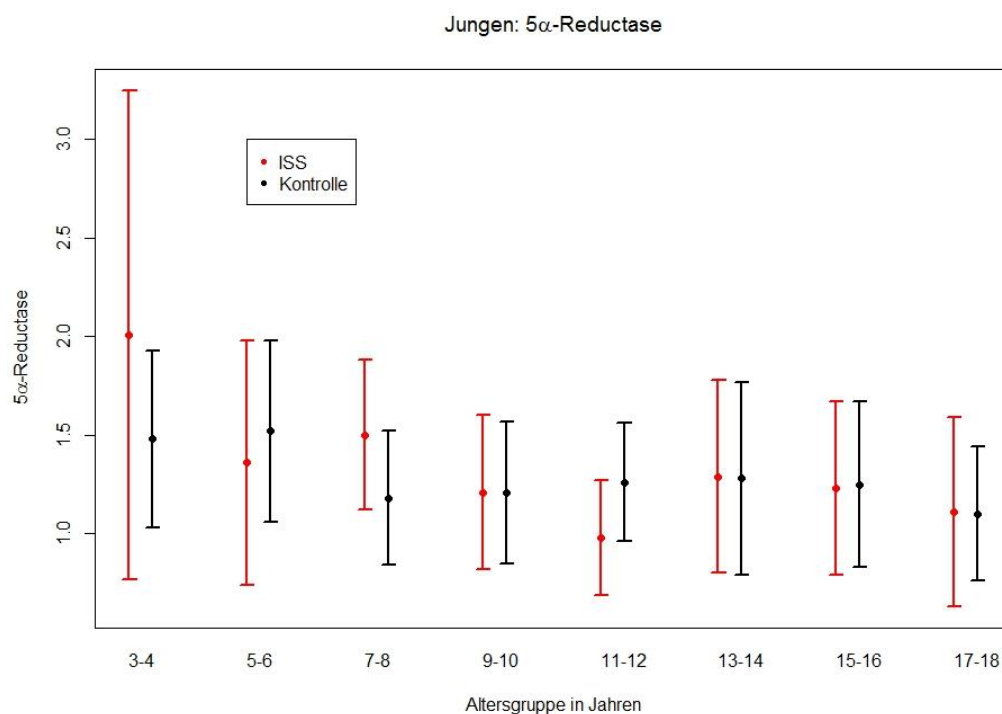
Altersgruppe in Jahren	3-4	5-6	7-8	9-10	11-12	13-14	15-16	17-18	ISS gesamt
gültige Fallzahl n	6	14	15	34	25	31	28	8	161
Median	-0,79	-0,74	0,11	-0,63	-0,50	-0,66	-0,47	-0,62	<b>-0,57</b>
p-Wert	0,011	0,013	0,248	0,673	0,159	0,442	0,01	0,458	<b>0,033</b>

Es zeigt sich kein wesentlicher Unterschied zum Diagramm ohne Bezug auf die Körperoberfläche außer, das hier bei den 7-8-Jährigen der Median knapp oberhalb von Null liegt. Der p-Wert ist nur in den Altersgruppen 3-4, 5-6 und 15-16 Jahre signifikant. Das ISS-Gesamtkollektiv liegt mit dem SDS-Median unter Null. Der p-Wert für das Gesamtkollektiv ist signifikant. Dies bedeutet, die ISS-Probanden haben signifikant niedrigere Exkretionsraten für C21/KO als die Kontrollgruppe.

### 3.1.3 Enzymaktivitäten

#### 3.1.3.1 5 $\alpha$ -Reductase

Enzymaktivität der 5 $\alpha$ -Reductase bei den ISS-Probanden und in der Kontrollgruppe – Jungen



**Abbildung 48:** Enzymaktivität der 5 $\alpha$ -Reductase bei den ISS-Probanden und in der Kontrollgruppe - Jungen

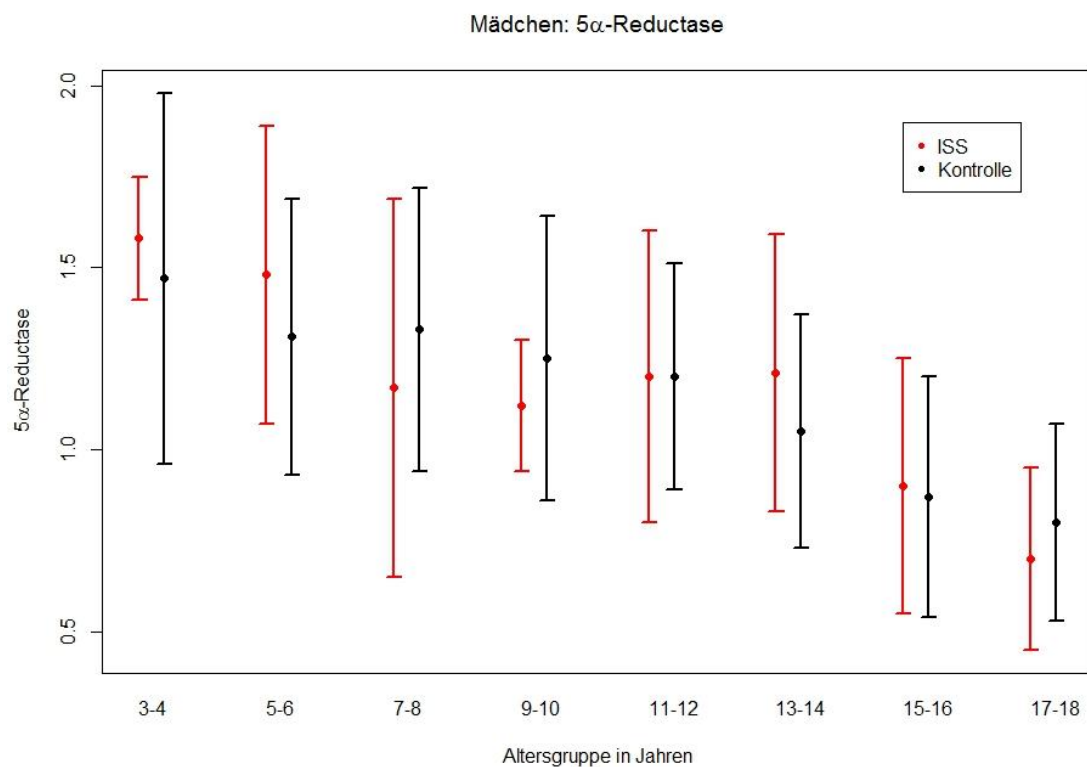
**Tabelle 47:** Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen (SD) für die Enzymaktivität der 5 $\alpha$ -Reductase bei den ISS-Probanden und in der Kontrollgruppe - Jungen

Altersgruppe in Jahren	3-4	5-6	7-8	9-10	11-12	13-14	15-16	17-18
ISS MW	2,01	1,36	1,50	1,21	0,98	1,29	1,23	1,11
SD	1,24	0,62	0,38	0,39	0,29	0,49	0,44	0,48
Kontr. MW	1,48	1,52	1,18	1,21	1,26	1,28	1,25	1,10
SD	0,45	0,46	0,34	0,36	0,30	0,49	0,42	0,34

Die Enzymaktivität der 5 $\alpha$ -Reductase zeigt sowohl bei den ISS-Probanden als auch in der Kontrollgruppe einen leichten Abfall mit steigendem Alter.

Der Mittelwert liegt meist zwischen 1,0 und 1,5.

### Enzymaktivität der 5 $\alpha$ -Reductase bei den ISS-Probanden und in der Kontrollgruppe – Mädchen



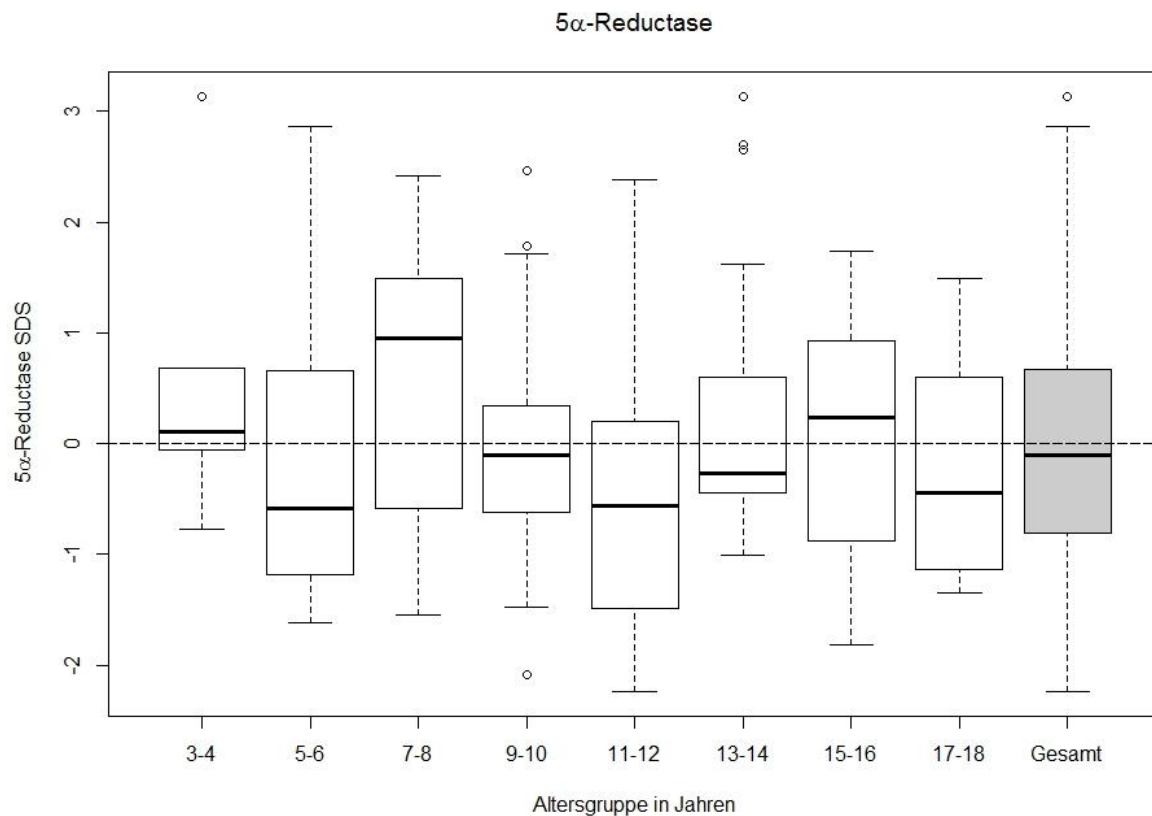
**Abbildung 49:** Enzymaktivität der 5 $\alpha$ -Reductase bei den ISS-Probanden und in der Kontrollgruppe - Mädchen

**Tabelle 48:** Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen (SD) für die Enzymaktivität der 5 $\alpha$ -Reductase bei den ISS-Probanden und in der Kontrollgruppe - Mädchen

Altersgruppe in Jahren	3-4	5-6	7-8	9-10	11-12	13-14	15-16	17-18
<b>ISS MW</b>	<b>1,58</b>	<b>1,48</b>	<b>1,17</b>	<b>1,12</b>	<b>1,20</b>	<b>1,21</b>	<b>0,90</b>	<b>0,70</b>
<b>SD</b>	0,17	0,41	0,52	0,18	0,40	0,38	0,35	0,25
<b>Kontr. MW</b>	<b>1,47</b>	<b>1,31</b>	<b>1,33</b>	<b>1,25</b>	<b>1,20</b>	<b>1,05</b>	<b>0,87</b>	<b>0,80</b>
<b>SD</b>	0,51	0,38	0,39	0,39	0,31	0,32	0,33	0,27

Auch bei den Mädchen zeigt sich für die Enzymaktivität der 5 $\alpha$ -Reductase ein Abfall mit steigendem Alter. Auch hier liegt sowohl in der ISS- als auch in der Kontrollgruppe der Mittelwert meist zwischen 1,0 und 1,5.

Bei den 15-18-Jährigen Mädchen liegt der Mittelwert etwas niedriger als bei den Jungen derselben Altersklassen (< 1,0).

**Abbildung 50:** 5 $\alpha$ -Reductase SDS**Tabelle 49:** 5 $\alpha$ -Reductase SDS

Altersgruppe in Jahren	3-4	5-6	7-8	9-10	11-12	13-14	15-16	17-18	ISS gesamt
gültige Fallzahl n	6	14	15	35	25	31	29	8	163
Median	0,10	-0,58	0,95	-0,11	-0,56	-0,26	0,24	-0,44	<b>-0,10</b>
p-Wert	0,381	0,615	0,106	0,555	0,056	0,363	0,996	0,564	<b>0,863</b>

Die SDS-Werte für die Enzymaktivität der 5 $\alpha$ -Reductase sind stark schwankend.

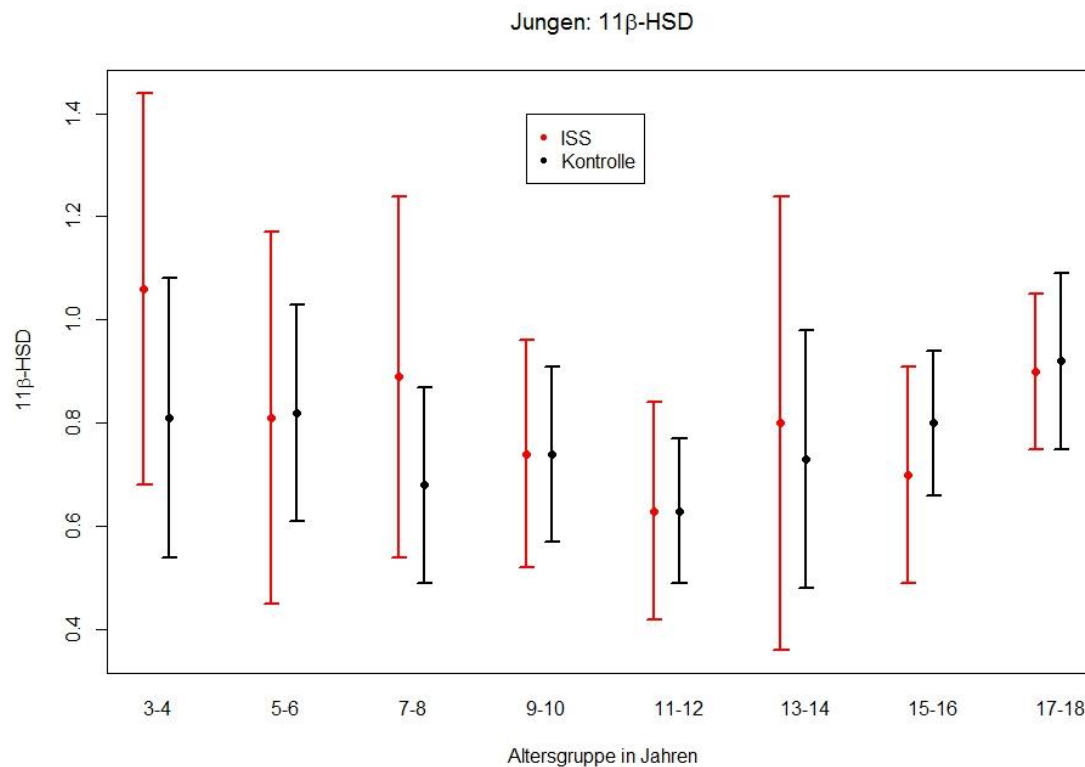
Lediglich bei den 9-14-Jährigen liegen die Werte konstant unter 0. Der p-Wert ist in allen Altersgruppen nicht signifikant. D.h. die 5 $\alpha$ -Reductase-Aktivität ist in allen Altersgruppen der ISS-Probanden nicht signifikant niedriger als in den entsprechenden Altersgruppen der Kontrollgruppe.

Auch im Gesamtkollektiv der ISS-Probanden liegt der Wert SDS-Median unter 0.

Der p-Wert für das Gesamtkollektiv ISS ist mit 0,863 nicht signifikant. Dies bedeutet, die Aktivität der 5 $\alpha$ -Reductase ist bei den ISS-Probanden nicht signifikant geringer als in der Kontrollgruppe.

### 3.1.3.2 11 $\beta$ -HSD

#### Enzymaktivität der 11 $\beta$ -HSD bei den ISS-Probanden und in der Kontrollgruppe – Jungen



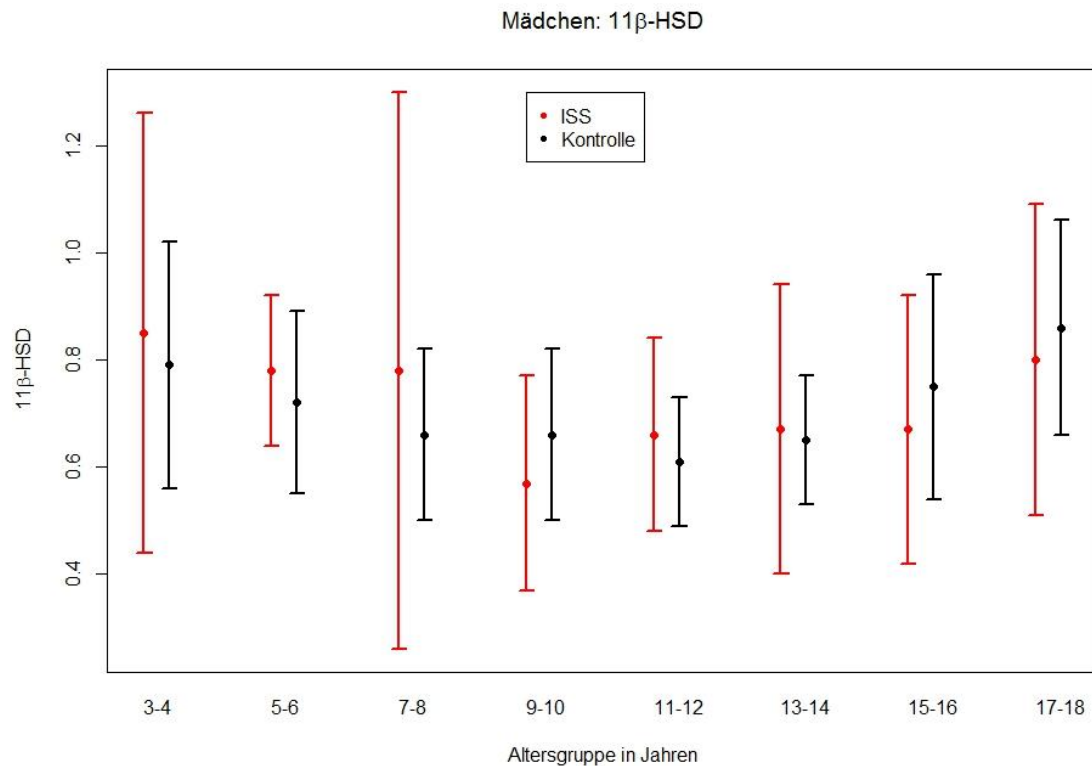
**Abbildung 51:** Enzymaktivität der 11 $\beta$ -HSD bei den ISS-Probanden und in der Kontrollgruppe - Jungen

**Tabelle 50:** Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen (SD) für die Enzymaktivität der 11 $\beta$ -HSD bei den ISS-Probanden und in der Kontrollgruppe - Jungen

Altersgruppe in Jahren	3-4	5-6	7-8	9-10	11-12	13-14	15-16	17-18
<b>ISS MW</b>	<b>1,06</b>	<b>0,81</b>	<b>0,89</b>	<b>0,74</b>	<b>0,63</b>	<b>0,80</b>	<b>0,70</b>	<b>0,90</b>
<b>SD</b>	0,38	0,36	0,35	0,22	0,21	0,44	0,21	0,15
<b>Kontr. MW</b>	<b>0,81</b>	<b>0,82</b>	<b>0,68</b>	<b>0,74</b>	<b>0,63</b>	<b>0,73</b>	<b>0,80</b>	<b>0,92</b>
<b>SD</b>	0,27	0,21	0,19	0,17	0,14	0,25	0,14	0,17

Die Enzymaktivität der 11 $\beta$ -HSD zeigt sich mit Mittelwerten zwischen 0,6 und 1,0 insgesamt etwas niedriger als die Aktivität der 5 $\alpha$ -Reductase.

Es zeigt sich bei den 9-12-Jährigen ein leichter Tiefpunkt.

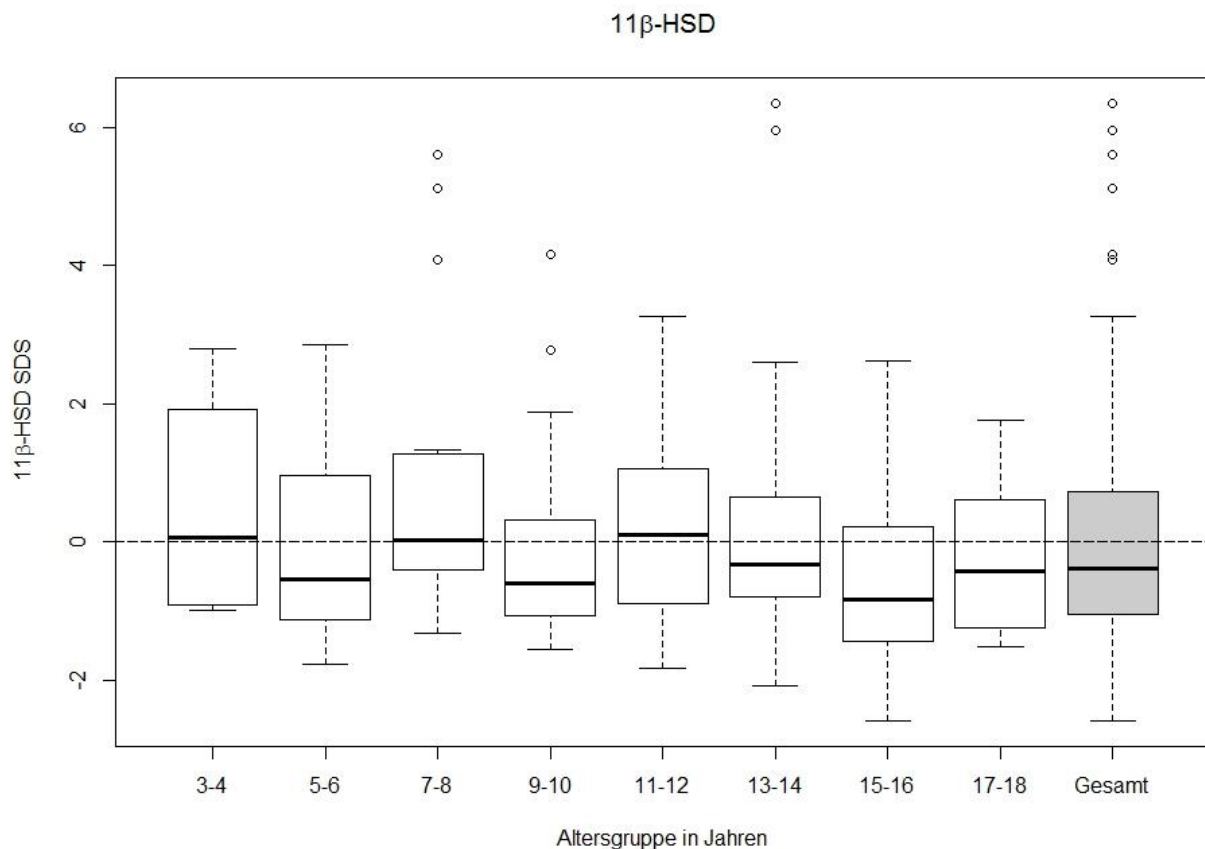


**Abbildung 52:** Enzymaktivität der 11 $\beta$ -HSD bei den ISS-Probanden und in der Kontrollgruppe - Mädchen

**Tabelle 51:** Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen (SD) für die Enzymaktivität der 11 $\beta$ -HSD bei den ISS-Probanden und in der Kontrollgruppe - Mädchen

Altersgruppe in Jahren	3-4	5-6	7-8	9-10	11-12	13-14	15-16	17-18
ISS MW	0,85	0,78	0,78	0,57	0,66	0,67	0,67	0,80
SD	0,41	0,14	0,52	0,20	0,18	0,27	0,25	0,29
Kontr. MW	0,79	0,72	0,66	0,66	0,61	0,65	0,75	0,86
SD	0,23	0,17	0,16	0,16	0,12	0,12	0,21	0,20

Wie bei den Jungen liegen auch hier die Mittelwerte zwischen 0,6 und 1,0. Die niedrigste Enzymaktivität zeigt sich bei den 9-14-Jährigen.

**Abbildung 53:** 11 $\beta$ -HSD SDS**Tabelle 52:** 11 $\beta$ -HSD SDS

Altersgruppe in Jahren	3-4	5-6	7-8	9-10	11-12	13-14	15-16	17-18	ISS gesamt
gültige Fallzahl n	6	14	15	35	25	31	29	8	163
Median	0,07	-0,55	0,02	-0,60	0,10	-0,33	-0,84	-0,43	<b>-0,39</b>
p-Wert	0,477	0,935	0,098	0,356	0,521	0,484	0,046	0,585	<b>0,72</b>

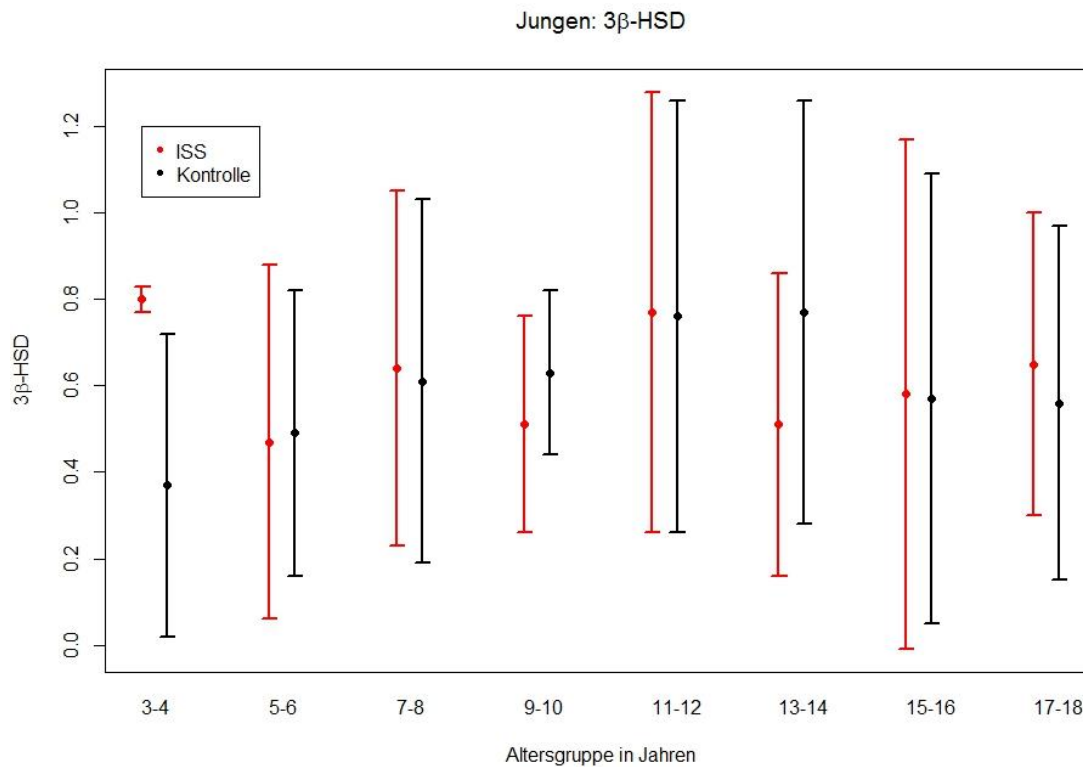
Die SDS-Mediane der ISS-Probanden für die Aktivität der 11 $\beta$ -HSD schwanken um den Wert 0. Der p-Wert ist nur bei den 15-16-Jährigen signifikant.

Die Gesamtheit der ISS-Probanden liegt mit dem SDS-Wert unter 0.

Der p-Wert des Gesamtkollektivs ISS ist mit 0,72 nicht signifikant. Das bedeutet, dass die Aktivität der 11 $\beta$ -HSD bei den ISS-Probanden nicht signifikant geringer ist als in der Kontrollgruppe.

### 3.1.3.3 3 $\beta$ -HSD

#### Enzymaktivität der 3 $\beta$ -HSD bei den ISS-Probanden und in der Kontrollgruppe –Jungen



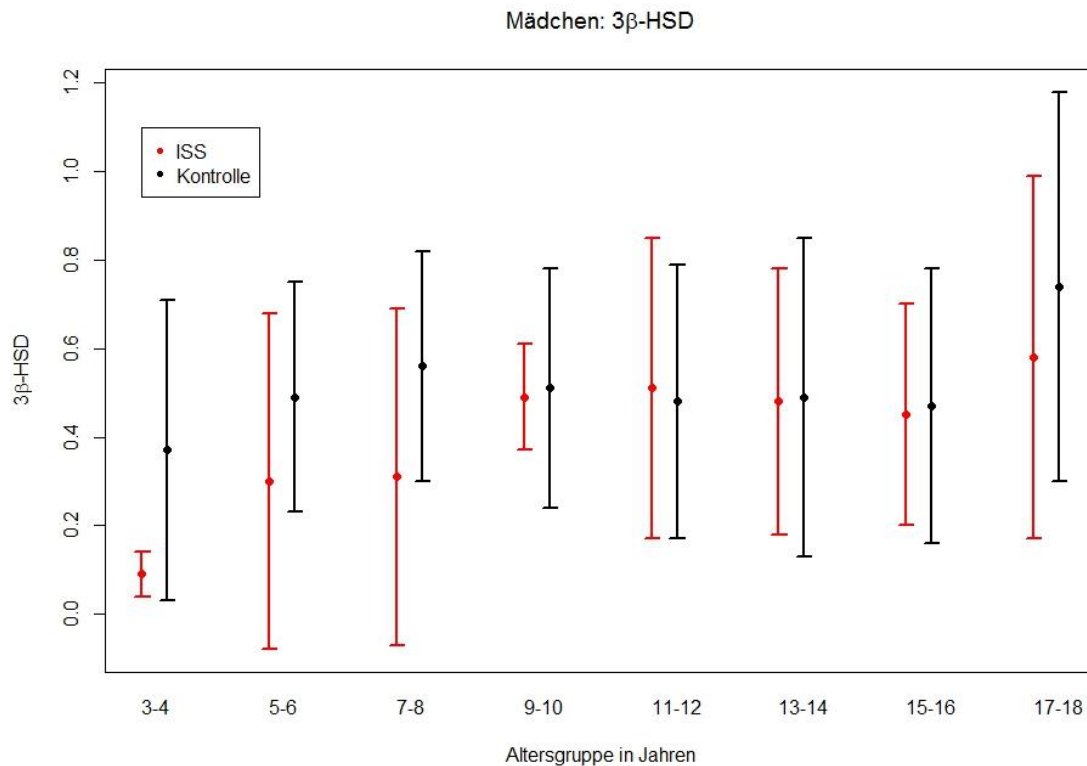
**Abbildung 54:** Enzymaktivität der 3 $\beta$ -HSD bei den ISS-Probanden und in der Kontrollgruppe - Jungen

**Tabelle 53:** Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen (SD) für die Enzymaktivität der 3 $\beta$ -HSD bei den ISS-Probanden und in der Kontrollgruppe - Jungen

Altersgruppe in Jahren	3-4	5-6	7-8	9-10	11-12	13-14	15-16	17-18
ISS MW	0,80	0,47	0,64	0,51	0,77	0,51	0,58	0,65
SD	0,03	0,41	0,41	0,25	0,51	0,35	0,59	0,35
Kontr. MW	0,37	0,49	0,61	0,63	0,76	0,77	0,57	0,56
SD	0,35	0,33	0,42	0,19	0,50	0,49	0,52	0,41

Für die Aktivität der 3 $\beta$ -HSD zeigt sich in beiden Gruppen zunächst ein tendenzieller Anstieg mit einem Maximum bei den 11-12-Jährigen. In beiden Gruppen gibt es einen leichten Einbruch bei den 9-10-Jährigen; in der ISS-Gruppe zusätzlich auch bei den 13-14-Jährigen. Zudem fällt auf, dass in der ISS-Gruppe die Aktivität der 3 $\beta$ -HSD vom 13.-18. Lebensjahr leicht ansteigt, während sie in der Kontrollgruppe eher abfällt.



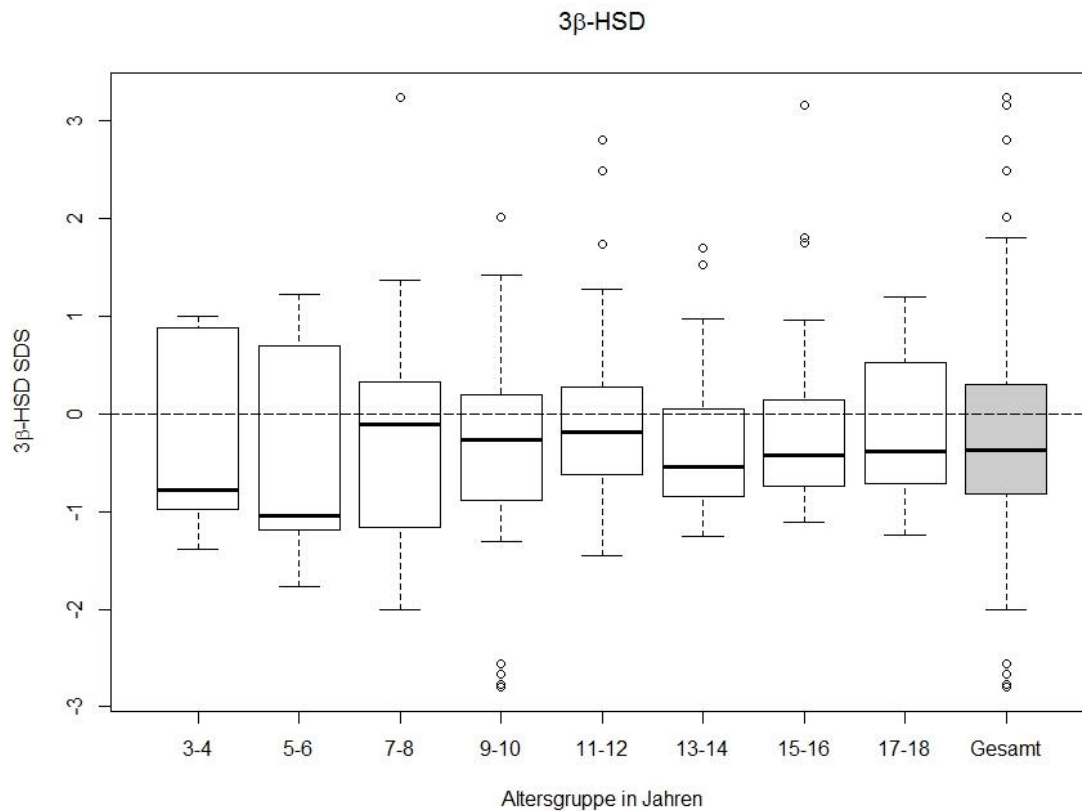


**Abbildung 55:** Enzymaktivität der 3 $\beta$ -HSD bei den ISS-Probanden und in der Kontrollgruppe - Mädchen

**Tabelle 54:** Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen (SD) für die Enzymaktivität der 3 $\beta$ -HSD bei den ISS-Probanden und in der Kontrollgruppe - Mädchen

Altersgruppe in Jahren	3-4	5-6	7-8	9-10	11-12	13-14	15-16	17-18
<b>ISS MW</b>	<b>0,09</b>	<b>0,30</b>	<b>0,31</b>	<b>0,49</b>	<b>0,51</b>	<b>0,48</b>	<b>0,45</b>	<b>0,58</b>
<b>SD</b>	0,05	0,38	0,38	0,12	0,34	0,30	0,25	0,41
<b>Kontr. MW</b>	<b>0,37</b>	<b>0,49</b>	<b>0,56</b>	<b>0,51</b>	<b>0,48</b>	<b>0,49</b>	<b>0,47</b>	<b>0,74</b>
<b>SD</b>	0,34	0,26	0,26	0,27	0,31	0,36	0,31	0,44

Auch bei den Mädchen zeigt sich zunächst ein tendenzieller Anstieg der 3 $\beta$ -HSD-Aktivität. Im Gegensatz zu den Jungen bleibt sie danach aber relativ konstant mit steigendem Alter. Bei den ISS-Mädchen besteht die höchste Aktivität bei den 9-12-Jährigen (ca. 0,5); in der Kontrollgruppe mit knapp 0,6 bei den 7-8-Jährigen.

**Abbildung 56:** 3 $\beta$ -HSD SDS**Tabelle 55:** 3 $\beta$ -HSD SDS

Altersgruppe in Jahren	3-4	5-6	7-8	9-10	11-12	13-14	15-16	17-18	ISS gesamt
gültige Fallzahl n	5	12	13	35	25	31	29	8	158
Median	-0,78	-1,04	-0,11	-0,26	-0,19	-0,54	-0,42	-0,39	<b>-0,37</b>
p-Wert	0,633	0,205	0,769	0,034	0,824	0,033	0,651	0,640	<b>0,008</b>

Die SDS-Mediane für die 3 $\beta$ -HSD-Aktivität liegen in allen Altersgruppen unterhalb von 0. Bei den 7-8-Jährigen ist der Median mit -0,11 am höchsten, bei den 13-14-Jährigen ist er mit -0,54 am niedrigsten. Der p-Wert ist nur bei den 9-10-Jährigen sowie bei den 13-14-Jährigen signifikant.

Die Gesamtheit der ISS-Probanden liegt mit dem SDS-Median ebenfalls unter 0. Der p-Wert für das Gesamtkollektiv ISS ist mit 0,008 signifikant. Dies bedeutet, die Aktivität der 3 $\beta$ -HSD ist in der ISS-Gruppe signifikant niedriger als in der Kontrollgruppe.

## 3.2 Zusammenfassung der Ergebnisse

### 3.2.1 Hormone

Für alle hier untersuchten Hormone lässt sich zusammenfassend Folgendes festhalten:

In den Fehlerbalken-Schaubildern zeigten sich mit steigendem Alter auch steigende Exkretionsraten für die Hormone. Dies galt sowohl für die ISS- als auch für die Kontrollgruppe. Der Verlauf der Hormonexkretion bei Jungen und Mädchen beider Gruppen war ähnlich und zeigte nur bei einigen Hormonen geringe Unterschiede. So verliefen die Exkretionsraten der Glucocorticoide bzw. der Summe aus den Glucocorticoid-Hauptmetaboliten (C21) nach dem 14. Lebensjahr bei den Mädchen in den höheren Altersklassen eher stagnierend, während sie bei den Jungen derselben Altersklassen eher weiter anstiegen.

Bei der Untersuchung der großen Summe aus den Haupt-Androgenmetaboliten (C19) fielen keine wesentlichen Geschlechtsunterschiede auf.

Die Umrechnung der Hormonexkretionsraten auf die Körperoberfläche (DHEA&M/KO, GC/KO, C21/KO) zeigte keine wesentliche Änderung im Verlauf und auch nicht in Bezug auf die SDS-Mediane.

Die SDS-Mediane der gesamten ISS-Probanden lagen für alle untersuchten Hormone  $< 0$ . Der p-Wert war für alle untersuchten Hormone signifikant. D. h. für hier alle untersuchten Hormone hatten die ISS-Probanden signifikant geringere Exkretionsraten als die Kontrollgruppe.

Weitere Beobachtungen werden im Folgenden für die Hormone im Einzelnen zusammengefasst:

#### 3.2.1.1 DHEA und Metaboliten

##### DHEA

Der Anstieg der Mittelwerte  $> 1 \mu\text{g/d}$  hinaus war ab 7-8 Jahren bei den Jungen und ab 9-10 Jahren bei den Mädchen beider Gruppen zu beobachten (s. Abbildung 12 und Abbildung 13).

Bei den 13-14-Jährigen ISS-Probanden war ein deutlicher Abfall des Medians zu verzeichnen (s. Abbildung 14 und Tabelle 13: DHEA SDS).

### DHEA&M

Der Anstieg der Hormonexkretion war deutlicher als bei DHEA allein. Der steilste Anstieg der Hormonexkretion war vom 7.-11. Lebensjahr zu sehen (s. Abbildung 15 und Abbildung 16).

Im ISS-Kollektiv lagen die Exkretions-Mittelwerte der Jungen in allen Altersgruppen höher als die Werte der Mädchen.

Bei den 13-14-Jährigen ISS-Probanden sah man einen deutlichen Abfall des SDS-Medians (s. Abbildung 17 und Tabelle 16).

### DHEA&M/KO

Der Anstiegsverlauf war ähnlich wie bei DHEA&M. Der steilste Anstieg der Hormonexkretion war vom 7.-11. Lebensjahr zu sehen (s. Abbildung 18 und Abbildung 19).

Bei den 13-14-Jährigen ISS-Probanden sah man einen deutlichen Abfall des SDS-Medians (s. Abbildung 20 und Tabelle 19).

### Androstendiol-17 $\beta$

Die Exkretion dieses Metaboliten ähnelt der von DHEA und DHEA&M.

Allerdings sah man im Verlauf im Gegensatz zu DHEA und DHEA&M keine Abweichung des SDS-Medians nach unten (s. Abbildung 23 und Tabelle 22).

### C19

Insgesamt lagen die Höchstwerte bei den Mädchen etwas niedriger als bei den Jungen (s. Tabelle 23 und Tabelle 24).

Bei beiden Geschlechtern beider Gruppen verlief die Exkretionskurve ab dem 7.-8. Lebensjahr am steilsten (s. Abbildung 24 und Abbildung 25).

Der SDS-Median lag bei den 7-8-Jährigen ISS-Probanden am höchsten und bei den 13-14-Jährigen am niedrigsten (s. Abbildung 26 und Tabelle 25).

#### **3.2.1.2 Glucocorticoidmetaboliten**

Die Exkretionsmengen der Glucocorticoidmetaboliten lagen um ein Vielfaches höher als die Mengen von DHEA und seinen Metaboliten. Die Messwerte für THE lagen am höchsten. Des Weiteren zeigte sich für die Glucocorticoidmetaboliten ein flacherer Anstieg der Hormonexkretion.

Die Exkretionsmengen der drei Glucocorticoidmetaboliten THE, THF und a-THF waren bei den ISS-Probanden signifikant niedriger als in der Kontrolle.

Für THF, a-THF und GC war der p-Wert in allen Altersgruppen, außer bei den 7-8-Jährigen ISS-Probanden, signifikant. D.h., auch im direkten Vergleich mit den entsprechenden Altersgruppen im Normalkollektiv hatten die ISS-Probanden hier signifikant niedrigere Exkretionsraten.

### THE

Wie in Abbildung 27 und Abbildung 28 zu sehen, war der steilste Anstieg der Hormonexkretion sowohl in der ISS- als auch in der Kontrollgruppe vom 9. bis 16. Lebensjahr zu verzeichnen.

Die Mittelwerte der Mädchen lagen deutlich niedriger als die der Jungen (s. Tabelle 26 und Tabelle 27).

### THF

Vergleicht man die beiden Kurven in Abbildung 31 sowie die dazugehörigen Mittelwerte in Tabelle 30, so stellt man fest, dass bei den Mädchen der ISS-Gruppe der Anstieg der Hormonexkretion  $> 500 \mu\text{g/d}$  hinaus gegenüber den Mädchen der Kontrollgruppe verzögert war (13-14 Jahre vs. 9-10 Jahre).

Ab dem 13.-14. Lebensjahr lagen die Werte der Jungen höher als die Werte der Mädchen (vergleiche Tabelle 29 und Tabelle 30).

### a-THF

Anhand Abbildung 33 und Tabelle 32 erkennt man, dass bei den Jungen der ISS-Gruppe der Anstieg der Hormonexkretion  $> 500 \mu\text{g/d}$  hinaus gegenüber den Jungen der Kontrollgruppe verzögert war (13-14 Jahre vs. 9-10 Jahre).

Die ISS-Mädchen erreichten zu einem späteren Zeitpunkt als die Mädchen der Kontrollgruppe die höchsten Mittelwerte (13-14 Jahre vs. 9-10 Jahre). Auch lagen die höchsten Mittelwerte der ISS-Mädchen deutlich niedriger als die der Kontrollgruppe ( $540\text{-}640 \mu\text{g/d}$  vs.  $880\text{-}940 \mu\text{g/d}$ ) (s. Abbildung 34 und Tabelle 33).

### GC

Der steilste Anstieg der Hormonexkretion war in beiden Gruppen ab dem 9. Lebensjahr zu verzeichnen (s. Abbildung 36 und Abbildung 37).

Sowohl in der ISS- als auch in der Kontrollgruppe stiegen bei den Mädchen, im Gegensatz zu den Jungen, die Werte in den älteren Altersgruppen nicht an, sondern stagnierten bzw. fielen ab (s. Abbildung 37).

Abbildung 37 zeigt ebenfalls, dass bei den ISS-Mädchen der Anstieg der Hormonexkretion  $> 2000 \mu\text{g/d}$  hinaus gegenüber den Mädchen der Kontrollgruppe verzögert (13-14 Jahre vs. 9-10 Jahre).

### GC/KO

Sowohl bei den Jungen als auch bei den Mädchen lagen die Mittelwerte der ISS-Probanden durchweg unter den Werten der Kontrollgruppe.

Auch hier fielen bei den Mädchen die Werte in den höheren Altersgruppen ab und stiegen nicht weiter an wie bei den Jungen (Tabelle 38 und Tabelle 39).

### C21

Wie man Abbildung 42 und Tabelle 41 entnehmen kann, war bei den ISS-Jungen der Anstieg des Mittelwerts über  $4000 \mu\text{g/d}$  hinaus gegenüber den Jungen der Kontrollgruppe verzögert (11-12 Jahre vs. 9-10 Jahre).

Ähnliches sieht man bei den Mädchen in Abbildung 43 und Tabelle 42: Bei den ISS-Mädchen zeigte sich der Anstieg des Mittelwerts über  $4000 \mu\text{g/d}$  hinaus gegenüber den Mädchen der Kontrollgruppe verzögert (13-14 Jahre vs. 9-10 Jahre).

### C21/KO

Nach Bezug auf die Körperoberfläche lagen die Mittelwerte für die Hormonexkretionsraten bei den 3-8-Jährigen Jungen und Mädchen beider Gruppen höher als die Mittelwerte in denselben Altersgruppen ohne Bezug auf die Körperoberfläche (vergleiche Tabelle 41 Tabelle 42 mit Tabelle 44 Tabelle 45).

Der Exkretionsanstieg war bei den ISS-Probanden im Vergleich zur Kontrollgruppe nicht verzögert (s. Abbildung 45 und Abbildung 46).

### 3.2.2 Enzymaktivitäten

#### 5 $\alpha$ -Reductase

Die Aktivität der 5 $\alpha$ -Reductase zeigte in der ISS- und der Kontrollgruppe einen ähnlichen Verlauf: mit steigendem Alter fiel die Enzymaktivität ab (s. Abbildung 48/Abbildung 49). Insgesamt lag die Aktivität der 5 $\alpha$ -Reductase in beiden Gruppen höher als die Aktivität der 11 $\beta$ -HSD. Es zeigten sich keine wesentlichen Geschlechtsunterschiede.

Die ISS-Probanden hatten keine signifikant niedrigeren Enzymaktivitäten für 5 $\alpha$ -Reductase als die Kontrollgruppe.

#### 11 $\beta$ -HSD

Auch hier zeigten die ISS- und die Kontrollgruppe einen ähnlichen Kurvenverlauf bezüglich der Enzymaktivität. Sowohl in der ISS- als auch in der Kontrollgruppe zeigten bei beiden Geschlechtern die 9-12-14-Jährigen die niedrigste Enzymaktivität (s. Abbildung 51 und Abbildung 52).

Insgesamt lag die 11 $\beta$ -HSD-Aktivität niedriger als die Aktivität der 5 $\alpha$ -Reductase. Es zeigten sich keine wesentlichen Geschlechtsunterschiede.

Die ISS-Probanden hatten keine signifikant niedrigeren Enzymaktivitäten als die Kontrollgruppe.

#### 3 $\beta$ -HSD

3 $\beta$ -HSD ist das einzige der drei untersuchten Enzyme, für die die ISS-Probanden signifikant niedrigere Aktivitäten zeigten als die Kontrollgruppe.

Der maximale Aktivitätsindex wurde von den ISS-Jungen etwas später erreicht als von den ISS-Mädchen (11-12 Jahre vs. 9-12 Jahre) und lag auch etwas höher als (0,8 vs. 0,5). Der Aktivitätsindex stieg bei beiden Geschlechtern nach dem 12. Lebensjahr nicht weiter an, sondern fiel entweder leicht ab (Jungen) oder blieb relativ konstant (Mädchen) (s. Abbildung 54 und Abbildung 55).

### 3.3 Einfluss von Alter und BMI auf die Hormonexkretion bzw. Enzymaktivität

Es war noch interessant herauszufinden, ob und auf welche Hormone bzw. Enzyme das Alter und der BMI einen Einfluss hatten. Hierfür wurde die lineare Regression durchgeführt, die zum folgendem Ergebnis führte:

Alter und BMI hatten auf alle Hormonexkretionsraten und die Enzymaktivität 5 $\alpha$ -Reductase einen signifikanten Einfluss.

Auf DHEA, DHEA&M, DHEA&M/KO, Androstendiol-17 $\beta$ , THE, THF, a-THF, GC und GC/KO war der Einfluss positiv, **d.h. je älter der Proband bzw. größer der BMI, desto größer auch die Hormonexkretionsrate.**

Alter und BMI hatten auch auf die großen Summen C19 und C21 (und C21/KO) einen signifikanten Einfluss.

Auf 5 $\alpha$ -Reductase war der Einfluss negativ, d.h. je älter der Proband bzw. größer der BMI, desto geringer die Enzymaktivität.

Auf die Aktivität von 11 $\beta$ -HSD und 3 $\beta$ -HSD hatten Alter und BMI keinen Einfluss.

Eine Übersicht über das Ergebnis der linearen Regression liefert folgende Tabelle:



**Tabelle 56:** Ergebnisse der linearen Regression mit den Hormonexkretionsraten bzw. Enzymaktivitäten als abhängigen Größen und Alter bzw. BMI als erklärender Variable

abhängige Größe	Alter	BMI
<b>DHEA</b>	$\beta = 0,119$ $p < 0,001$ $R^2 = 0,39$	$\beta = 0,123$ $p < 0,001$ $R^2 = 0,30$
<b>DHEA&amp;M</b>	$\beta = 0,140$ $p < 0,001$ $R^2 = 0,54$	$\beta = 0,135$ $p < 0,001$ $R^2 = 0,32$
<b>DHEA&amp;M/KO</b>	$\beta = 0,108$ $p < 0,001$ $R^2 = 0,42$	$\beta = 0,102$ $p < 0,001$ $R^2 = 0,24$
<b>Androstenediol-17<math>\beta</math></b>	$\beta = 0,116$ $p < 0,001$ $R^2 = 0,56$	$\beta = 0,116$ $p < 0,001$ $R^2 = 0,42$
<b>C19</b>	$\beta = 0,133$ $p < 0,001$ $R^2 = 0,62$	$\beta = 0,129$ $p < 0,001$ $R^2 = 0,38$
<b>THE</b>	$\beta = 166,1$ $p < 0,001$ $R^2 = 0,22$	$\beta = 218,0$ $p < 0,001$ $R^2 = 0,24$
<b>THF</b>	$\beta = 58,5$ $p < 0,001$ $R^2 = 0,30$	$\beta = 77,2$ $p < 0,001$ $R^2 = 0,33$
<b>a-THF</b>	$\beta = 51,0$ $p < 0,001$ $R^2 = 0,16$	$\beta = 66,1$ $p < 0,001$ $R^2 = 0,17$
<b>GC</b>	$\beta = 275,6$ $p < 0,001$ $R^2 = 0,25$	$\beta = 361,3$ $p < 0,001$ $R^2 = 0,27$
<b>GC/KO</b>	$\beta = 83,6$ $p = 0,004$ $R^2 = 0,05$	$\beta = 110,5$ $p = 0,003$ $R^2 = 0,06$
<b>C21</b>	$\beta = 449,4$ $p < 0,001$ $R^2 = 0,28$	$\beta = 593,0$ $p < 0,001$ $R^2 = 0,30$
<b>C21/KO</b>	$\beta = 148,2$ $p < 0,001$ $R^2 = 0,07$	$\beta = 197,9$ $p < 0,001$ $R^2 = 0,08$
<b>5<math>\alpha</math>-Reductase</b>	$\beta = -0,036$ $p < 0,001$ $R^2 = 0,08$	$\beta = -0,033$ $p = 0,009$ $R^2 = 0,04$
<b>11<math>\beta</math>-HSD</b>	$\beta = -0,008$ $p = 0,195$ $R^2 = 0,01$	$\beta = 0,000$ $p = 0,978$ $R^2 = 0,00$
<b>3<math>\beta</math>-HSD</b>	$\beta = 0,009$ $p = 0,292$ $R^2 = 0,01$	$\beta = 0,008$ $p = 0,461$ $R^2 = 0,00$

$\beta$ =Steigung der Geraden,  $p$ =Signifikanz,  $R^2$ =Bestimmtheitsmaß

## 4 Diskussion

### 4.1 Steroidhormonanalyse

Grundlage der Steroidhormonbestimmung in der vorliegenden Arbeit ist die Steroidhormonanalyse aus dem Urin. Die Hormonbestimmung aus dem Urin bietet sich aus folgendem Grund an: Zwar handelt es sich bei Steroidhormonen um hydrophobe Substanzen. Doch durch den Katabolismus, der hauptsächlich in der Leber stattfindet, werden sie zu Glucuroniden und Sulphaten konjugiert. Somit werden sie zu hydrophilen Substanzen, bevor sie hauptsächlich über den Urin ausgeschieden werden. (Gower 1984). Während der Katabolisierung der Steroidhormone findet kein vollständiger Abbau des Kohlenwasserstoffgerüsts statt. Es finden hauptsächlich Reduzierungs-, Oxidations- und Hydroxylierungsreaktionen statt. Aufgrund dieser Gegebenheiten bietet es sich an, Steroidhormonanalysen aus dem Urin durchzuführen.

Weitere Steroidanalyse-Verfahren, die hier genannt werden sollen, sind das Immunoassay sowie die Flüssigkeitschromatographie-Massenspektrometrie (LC-MS). Immunoassay ist zwar schnell und einfach durchführbar und kostengünstig. Es geht aber mit Kreuzreaktionen einher und ist im Vergleich zur GC-MS nicht spezifisch (Wudy und Hartmann 2011). Zudem ist im Gegensatz zur GC-MS mit diesem Verfahren nicht die simultane Bestimmung von mehreren Steroiden gleichzeitig möglich.

Die LC-MS/MS ist ebenfalls eines der spezifischsten Techniken, die in der klinischen Labordiagnostik verfügbar sind. Zum einen kommt sie mit nur sehr wenig Material und geringer Probenzubereitung aus. Zum anderen hat sie im Vergleich zur GC-MS eine sehr kurze Analysezeit (Kushnir et al. 2011). Wie mit der GC-MS kann auch mit der LC-MS/MS ein Spektrum an Steroidhormonen simultan analysiert werden (Rauh 2010). Sowohl GC-MS als auch LC-MS/MS sind dem Immunoassay deutlich überlegen (Krone et al. 2009).

Dennoch ist hervorzuheben, dass GC-MS gegenüber LC-MS/MS deutliche Vorteile hat: So hat GC-MS z.B. eine bessere chromatographische Auflösung, ist nicht selektiv und ist die überlegenere Methode zur Trennung von Steroid-Epimeren (und ist somit besonders geeignet für die Diagnostik von Steroidhormonstörungen).

Es wird deshalb betont, dass die GC-MS auch in Zeiten der schnellen LC-MS/MS die herausragende Methode zur klinischen Steroidanalyse bleibt (Krone et al. 2010). Die Methode der GC-MS zur gleichzeitigen Analyse verschiedener Steroidhormone in einem einzigen Steroidhormonprofil bleibt unübertroffen (Wudy und Hartmann 2011). In der vorliegenden Arbeit wurde ergo mit der GC-MS aufgrund ihrer hohen Spezifität die bestmögliche Methode zur Steroidhormonanalyse gewählt.

## **4.2 ISS-Probanden**

An dieser Stelle soll nochmals betont werden, dass es sich bei dem ISS-Kollektiv um eine Gruppe mit zwei verschiedenen Formen von Kleinwuchs handelt: Bei der KEV liegen sowohl eine Pubertäts- als auch eine Knochenalterretardierung vor, während dies beim FSS nicht der Fall ist. Viele Patienten zeigen Hinweise auf gleichzeitiges Vorliegen beider Kleinwuchsformen. An manchen Stellen der Diskussion wird das Augenmerk besonders auf KEV gerichtet, da sie den größeren Anteil im ISS-Kollektiv ausmacht.

Auch muss darauf hingewiesen werden, dass KEV eine Ausschlussdiagnose ist und nicht vor dem normal zu erwartenden Eintritt der Pubertät diagnostiziert werden kann. Daraus resultiert, dass in der Altersgruppe 7-12 Jahre die Diagnose KEV zwar noch nicht eindeutig war. Sie war jedoch hoch wahrscheinlich im Hinblick auf die für KEV typischen Befunde wie z.B. positive Familienanamnese, Wachstumsretardierung, Knochenalterverzögerung und erniedrigtes IGF-1.

## **4.3 Hormone**

Ein Vergleich der hier ermittelten Hormonexkretionswerte und Enzymaktivitäten bei den ISS-Probanden mit Werten aus der Literatur ist schwierig, da es bisher keine vergleichbare Studie an Kindern und Jugendlichen mit ISS gegeben hat.

Die Hormonexkretionswerte wurden in  $\mu\text{g/d}$  angegeben. Ein Bezug auf die Körperoberfläche konnte nur bei DHEA&M (DHEA und Metaboliten), GC (Glucocorticoide) und C21 (Summe der Hauptglucocorticoid-Metaboliten) vorgenommen werden, da nur hierfür die Vergleichsangaben vom Normalkollektiv vorlagen.

#### 4.3.1 DHEA und Metaboliten

Die Exkretion von DHEA und seinen Metaboliten wurde sowohl von den ISS-Probanden als auch von der Kontrollgruppe bis zum 6. Lebensjahr  $< 1\mu\text{g/d}$  gemessen. Ab dem 7.-8. Lebensjahr stiegen die Werte dann bei beiden Geschlechtern beider Gruppen an. Auch der Kurvenverlauf von C19 (der Summe der Hauptandrogenmetaboliten) war ab dem 7.-8. Lebensjahr am steilsten. Dieser Exkretionsverlauf ist übereinstimmend mit dem, was bisher über DHEA bekannt ist: DHEA wird schon während der Fetalzeit von der NNR produziert und ist eine Vorstufe der Schwangerschaftshormone. Nach der Geburt fällt das DHEA rapide ab und ist in den ersten Lebensjahren nur in geringen Mengen vorhanden. Der Wiederanstieg erfolgt erst mit Beginn der *Adrenarche* (Rege und Rainey 2012).

Das Alter, in dem die Adrenarche einsetzt, wird von verschiedenen Autoren auf 6-7-8 Jahren festgelegt (Auchus et Rainey 2004, Havelock et al. 2004, Idkowiak et al. 2011, Prader 1981). In den Schaubildern im Ergebnisteil sieht man den steilsten Anstieg der Hormonexkretion für DHEA bzw. DHEA&M vom 7-11. Lebensjahr. (Bei den ISS-Jungen stieg der Mittelwert für die DHEA-Exkretion  $> 1\mu\text{g/d}$  im Alter von 7-8 Jahren, bei den ISS-Mädchen im Alter von 9-10 Jahren). Dies entspricht dem Zeitraum des Beginns der Adrenarche. Cano et al. beobachteten in ihrer Studie an präpubertären Kindern 2006, dass die DHEA-Sulfat-Werte bei den 7,5-jährigen Mädchen und 8-jährigen Jungen am höchsten gemessen wurden. Zudem fanden sie auch heraus, dass diese Maximalwerte in der präpubertären Phase von den Mädchen früher erreicht wurde als von den Jungen.

Die Adrenarche könnte auch die Erklärung dafür sein, dass die SDS-Mediane bei den 7-8-jährigen ISS-Probanden für DHEA und DHEA&M deutlich nach oben abwichen. In dieser Altersgruppe schienen die 7-8-jährigen ISS-Probanden sogar höhere Exkretionsmengen für DHEA bzw. DHEA&M zu haben als die entsprechende

Altersgruppe aus der Kontrolle, allerdings nicht signifikant. Abgesehen davon, dass bei den ISS-Probanden die Exkretion von DHEA niedriger war als bei der Kontrolle, gab es in Bezug auf den *Verlauf* der DHEA-Exkretion keine Unterschiede. Man kann an diesem Punkt festhalten, dass die ISS-Probanden bezüglich der DHEA bzw. DHEA&M und C19-Exkretion einen ähnlichen Verlauf hatten wie das Normalkollektiv.

Zum anderen lassen die Exkretionsverläufe den Schluss zu, dass bei Kindern und Jugendlichen mit ISS der Wiederanstieg des DHEA - und damit der Beginn der Adrenarche - zum gleichen Zeitpunkt stattfindet wie bei Kindern und Jugendlichen ohne ISS. Dies wirft die Frage auf, weshalb dennoch bei KEV-Kindern die Pubarche später eintritt als bei normalen Kindern. Kann dies nur mit der verminderten Exkretion von DHEA bzw. DHEA&M erklärt werden oder wird die Pubarche noch von anderen Hormonen mit beeinflusst? Hier muss zunächst einmal geklärt werden, ob Adrenarche und Pubarche ein und dasselbe ist. Biro et. al betonten 2013, dass der Begriff Adrenarche sich auf die (Re)aktivierung der Zona reticularis der NNR und damit der Androgen-Produktion bezieht. Dies entspricht der historischen Definition von Albright und Talbot aus den 1940ern, die den Begriff der Adrenarche prägten. Pubarche dagegen beschreibt das klinische Auftreten von Schambehaarung. Adrenarche und Pubarche beschreiben also zwei verschiedene Phänomene, die aber beide mit der Pubertät zusammenhängen. Des Weiteren untersuchten Biro et al. 2013 die Serumkonzentrationen für DHEA-S, Testosteron und Estradiol bei Mädchen, bei denen die Pubertät entweder mit der Thelarche oder der Pubarche einsetzte. Sie fanden heraus, dass die Mittelwerte der DHEA-S-Konzentrationen bei den Mädchen mit Pubarche bzw. mit Pubarche *und* Thelarche signifikant höher waren als bei den Mädchen, die *nur* eine Thelarche hatten. Hiermit kann man den zweiten Teil der obigen Frage beantworten und sagen, dass für die Pubarche das DHEA bzw. DHEA-S zumindest die größere Rolle spielt. Die verminderte DHEA bzw. DHEA&M-Exkretion bei den ISS-Jungen und -Mädchen kann also durchaus eine Erklärung für den bei KEV typischen verspäteten Pubertätseintritt sein. Korrespondierend hierzu zeigten Jiang et al 2005 auf, dass bei Mädchen mit *vorzeitiger* Pubertät, die Serumkonzentrationen für DHEA und DHEA-S erhöht waren und diese Mädchen auch bezüglich der Tanner-Stadien weiter entwickelt waren.

Während bei normal entwickelten Mädchen die Pubarche unter dem Einfluss der adrenalen Androgene als eines der ersten Zeichen des Pubertätsbeginns auftritt, tritt die

Pubarche bei normal entwickelten Jungen selten vor der Geschlechtsreife auf und scheint zudem abhängig von der gonadalen Testosteron-Exkretion zu sein (Remer et al. 2010). Im vorliegenden ISS-Kollektiv hingegen tritt die Pubarche relativ spät auf und weist keinen Geschlechtsunterschied auf.

Weiterhin beobachteten Cano et al. 2006 eine signifikante positive Korrelation zwischen DHEA-S und Gewicht, Größe und BMI bei präpubertären Jungen und Mädchen. Da die Untersuchung von Cano et al. nur an 6-8-jährigen Jungen und Mädchen durchgeführt wurde, lässt sich nicht sagen, ob diese Korrelation auch bei jüngeren und älteren Kindern besteht. Denn dann ließe sich die Vermutung aufstellen, dass bei ISS die niedrigeren anthropometrischen Daten auch mit der niedrigeren DHEA bzw. DHEA-S Sekretion zusammenhängen.

Von allen Altersgruppen lagen bei den 13-14-jährigen ISS-Probanden die SDS-Mediane für DHEA, DHEA&M und C19 am niedrigsten, d.h. in dieser Altersgruppe waren die Exkretionsraten im Vergleich zur Kontrollgruppe am meisten vermindert.

Dies ist die Altersgruppe, in der bei KEV die Pubertät einsetzt (bei KEV-Mädchen mit  $\geq 13$  Jahren, bei KEV-Jungen mit  $\geq 14$  Jahren). Auch im direkten Vergleich mit den 13-14-Jährigen Jungen und Mädchen aus der Kontrollgruppe zeigte sich ein signifikanter Unterschied ( $p < 0,001$ ). Man kann daraus schlussfolgern, dass die 13-14-jährigen Jungen und Mädchen des Normalkollektivs aufgrund der signifikant höheren Produktion der Androgene in ihrer Entwicklung weiter fortgeschritten waren als die ISS-Jungen und Mädchen derselben Altersgruppe. Da vom Normalkollektiv keine Daten über die Pubertätsstadien vorlagen, konnte diesbezüglich kein Vergleich unternommen werden.

Der Exkretionsverlauf von Androstendiol-17 $\beta$  ist ähnlich dem Exkretionsverlauf von DHEA bzw. DHEA&M. Da es sich um einen direkten DHEA-Metaboliten handelt, erklärt sich hier die bei den ISS-Probanden niedrigere Exkretionsmenge. Wie bei DHEA und DHEA&M weichen auch für Androstendiol-17 $\beta$  die SDS-Mediane in der Altersgruppe der 7-8-jährigen ISS-Probanden deutlich nach oben ab (SDS 0,29). Dies hängt wahrscheinlich, wie oben erläutert, mit der Adrenarche zusammen. Durch die erhöhte DHEA-Sekretion fällt auch das Androstendiol-17 $\beta$  höher an.

Allerdings sieht man hier, im Gegensatz zu DHEA und DHEA&M, in der Altersgruppe der 13-14-jährigen ISS-Probanden keine deutliche Abweichung des Medians nach unten.

Auch ist der p-Wert in dieser Altersgruppe nicht signifikant ( $p = 0,169$ ). Die Exkretionsmenge von Androstendiol-17 $\beta$  scheint sich also zum Pubertätseintritt bei den ISS-Probanden nicht zu verändern. Eine Erklärung hierfür könnte sein, dass Androstendiol-17 $\beta$  keinen Einfluss auf die Pubertät hat und, ohne weiter metabolisiert zu werden, mit dem Urin ausgeschieden wird.

Der Einfluss des Alters auf DHEA und die Metaboliten bei den ISS-Probanden wurde auch von Remer et al. 2005 bei dem Normalkollektiv der DONALD-Studie gesehen. Allerdings galt dieser signifikante Einfluss des Alters nicht für DHEA allein. Bei den ISS-Probanden ist auch für DHEA allein der Einfluss des Alters signifikant.

#### **4.3.2 Glucocorticoidmetaboliten**

Die Exkretionswerte für die Glucocorticoidmetaboliten lagen deutlich über denen von DHEA und seinen Metaboliten, wobei für THE die Messwerte am höchsten waren.

In der vorliegenden Arbeit zeigten sich bei Bezug der Gesamtheit der Glucocorticoidmetaboliten auf die Körperoberfläche (GC/KO) weniger Schwankungen der Mittelwerte. Vergleicht man die Exkretionsverläufe für GC und GC/KO, so zeigt sich bei beiden Geschlechtern beider Kollektive ein leichter pubertärer Anstieg. Es wurde in der Vergangenheit beobachtet, dass die Exkretionswerte der Cortisolmetaboliten, sobald sie auf die Körperoberfläche bezogen wurden, mit steigendem Alter konstant blieben (Honour et al. 1990, Wörsinger 2001). Wudy et al. zeigten jedoch 2006 auf, dass diese Konstanz nicht immer galt. In ihrer Arbeit mit Probanden aus der DONALD-Studie zeigten sie, dass die Sekretion für C21 bezogen auf die Körperoberfläche (C21/KO) im Laufe der Kindheit einer Dynamik unterliegt und im Alter von 7-8 Jahren einen Tiefpunkt zeigt. (Diese Dynamik im Exkretionsverlauf konnten sie für das freie und konjugierte Cortisol nicht beobachten). Der initiale Sekretionsanstieg bei den 3-6-jährigen Jungen und Mädchen dieser Kontrollgruppe zeigte sich bei den vorliegenden ISS-Probanden nicht. Bei den ISS-Jungen war auch kein Tiefpunkt zu erkennen. Bei den ISS-Mädchen hingegen fand sich ein Tiefpunkt der Sekretionsraten bei den 9-12-Jährigen.

Bezüglich des Verlaufs der THE-Exkretion sah man keinen wesentlichen Unterschied zwischen den ISS-Probanden und der Kontrollgruppe. In beiden Gruppen zeigte sich der steilste Anstieg vom 9.-16 Lebensjahr.

Auch bezüglich der Exkretion von GC sah man für die ISS-Probanden und die Kontrollgruppe den steilsten Anstieg ab dem 9. Lebensjahr. Einen Anstieg der GC-Exkretion über 2000 µg/d hinaus zeigten die ISS-Mädchen erst mit 13-14 Jahren, während dies bei den Mädchen der Kontrollgruppe schon mit 9-10 Jahren der Fall war. Auch bezüglich des THF-Anstiegs > 500 µg/d hinaus sah man bei den ISS-Mädchen gegenüber der Kontrolle eine Verzögerung.

Eine Verzögerung bei *beiden* Geschlechtern der ISS-Gruppe sah man bezüglich der Exkretionsverläufe von a-THF: Der deutliche Anstieg dieses Metaboliten bei den ISS-Probanden fand im 13.-14. Lebensjahr statt; in der Kontrollgruppe dagegen viel früher, im 9.-10. Lebensjahr.

Ähnliches zeigte sich auch bezüglich der Summe der Hauptglucocorticoid-Metaboliten (C21): Bei den Jungen und Mädchen der ISS-Gruppe war der Anstieg über 4000 µg/d hinaus gegenüber der Kontrollgruppe verzögert (11-12 Jahre bzw. 13-14 Jahre vs. 9-10 Jahre).

In Zusammenschau dieser Ergebnisse lässt sich sagen, dass der Exkretionsanstieg für THF, a-THF, GC und C21 bei den ISS-Probanden mit dem Pubertätseintritt zusammenfiel, während dies in der Kontrolle eher kurz vor der Pubertät geschah. Für THE ließ sich dies nicht beobachten.

Spielen die Glucocorticoidmetaboliten in Bezug auf die Pubertät eine Rolle?

Es ist möglich, dass bei den ISS-Probanden Anstieg der Glucocorticoid-Sekretion und Pubertätseintritt in Zusammenhang stehen. Die Frage ist nun, ob der Anstieg der Glucocorticoid-Sekretion den Pubertätseintritt mitinitiiert oder ob umgekehrt, der Pubertätseintritt zum Anstieg der Glucocorticoid-Sekretion bei den ISS-Probanden führt. Topor et al. 2011 vermuteten, dass die Erhöhung der adrenalen Cortisolsekretion im Laufe der Kindheit die Adrenarche mitinitiiert. Diesen Einfluss des Cortisols auf die Adrenarche erklärten sie damit, dass Cortisol die Sekretion von DHEA stimuliert und gleichzeitig das Enzym 3β-HSD kompetitiv hemmt. Die Studie wurde allerdings in vitro durchgeführt und der stimulierende Effekt des Cortisols auf die DHEA-Sekretion wurde ab einer Cortisol-Sekretion von  $\geq 50$  µmol/l beobachtet. Zwar



ist Adrenarche nicht mit Pubertät gleichzusetzen, aber die durch die Adrenarche initiierte Pubarche ist ein Zeichen des Pubertätsbeginns.

Diese o.g. Zusammenhänge könnten auch durch die Tatsache unterstützt werden, dass die ISS-Jungen und –Mädchen im Alter von 13-14 Jahren in das Tanner-Stadium 2 eingetreten sind (s. Tabelle 4 und Tabelle 5).

Der verzögerte Anstieg der Glucocorticoidexkretion und damit auch der –sekretion bei den ISS-Probanden korrespondiert also mit dem für ISS typischen verspäteten Pubertätseintritt. Zudem spielt wahrscheinlich auch die verminderte Exkretionsmenge, die ja auf eine vermindert Sekretionsmenge hinweist, eine Rolle.

Es wurden aber auch andere Auswirkungen von Glucocorticoiden auf die körperliche Entwicklung beschrieben.

Fraser et al. zeigten 1999 eine klare positive Korrelation zwischen Cortisol-Exkretion und BMI auf. Auch die Studie von Dimitriou et al. 2003 zeigte eine positive signifikante Korrelation zwischen Glucocorticoidexkretion und Fettmasse, prozentualem Körperfett und dem BMI auf. Csabi et al. fanden 2000 heraus, dass bei übergewichtigen Kindern mit arterieller Hypertonie die Cortisol-Exkretion höher war als bei übergewichtigen und normal gewichtigen Kindern ohne arterieller Hypertonie. Der niedrigere BMI bei Kindern und Jugendlichen mit ISS könnte also auch mit der niedrigeren Cortisol-Sekretion zusammenhängen. Ob unsere ISS-Probanden auch niedrigere Blutdruckwerte als das Normalkollektiv hatten, haben wir nicht untersucht.

#### **4.4 Enzymaktivitäten**

Bezüglich der Enzymaktivität der 5 $\alpha$ -Reductase (a-THF/THF) zeigten die Jungen und Mädchen der ISS- und der Kontrollgruppe einen Abfall mit steigendem Alter. Zudem konnte nicht festgestellt werden, dass die Enzymaktivität der 5 $\alpha$ -Reductase bei den ISS-Probanden signifikant niedriger war als bei der Kontrolle.

ISS-Probanden und Kontrolle zeigten also das gleiche Verhalten bezüglich dieses Enzyms. Ein Unterschied zeigte sich allerdings bezüglich der Korrelation zwischen

Alter und 5 $\alpha$ -Reductase: Während Remer et al. 2005 keinen signifikanten Einfluss des Alters auf 5 $\alpha$ -Reductase beim Normalkollektiv finden konnten, zeigte sich bei den vorliegenden ISS-Probanden dagegen mit steigendem Alter bzw. höherem BMI ein Abfall der Enzymaktivität für 5 $\alpha$ -Reductase.

Der Quotient aus a-THF und THF zeigt aber auch die Balance zwischen 5 $\alpha$ - und 5 $\beta$ -Reductase an (Wudy et al. 2007). D. h., dass bei sinkendem Quotienten, wie dies hier der Fall ist, auch die Aktivität der 5 $\beta$ -Reductase erhöht sein könnte. Dies würde auf eine vermehrte Metabolisierung von Cortisol und Cortison zu THF und THE hindeuten und auf eine geringere Metabolisierung von Cortisol zu a-THF. Zwar konnte man in dieser Arbeit einen Anstieg der Exkretionsraten für die Glucocorticoidmetaboliten beobachten. Aber die Exkretionswerte für a-THF lagen bei den Jungen und Mädchen der ISS-Probanden und der Kontrollgruppe in allen Altersgruppen *höher* (und nicht wie erwartet niedriger) als für THF.

Eine plausible Erklärung kann bei derzeitigem Kenntnisstand zu oben beschriebenem nicht gegeben werden. Vielleicht liegt hier ein Einfluss der 3 $\alpha$ -Hydroxysteroid-Dehydrogenasen (3 $\alpha$ -HSD) vor, die den letzten Schritt der Metabolisierung von Cortisol und Cortison zu THE, THF und a-THF durchführen (s. Abbildung 5).

Ein möglicher stimulierender Einfluss von IGF-1 auf die Aktivität der 5 $\alpha$ -Reductase wurde ebenfalls schon diskutiert (Chin et al. 2000). Da hier aber kein signifikanter Unterschied in der 5 $\alpha$ -Reductase-Aktivität zwischen ISS-Probanden und der Kontrollgruppe gefunden werden konnte, scheint in Bezug auf diese Enzymaktivität auch das niedrigere IGF-1 bei ISS keine Rolle zu spielen.

ISS-Probanden und Kontrollgruppe zeigten auch keinen Unterschied bezüglich der 11 $\beta$ -HSD-Aktivität.

Die Aktivität der 11 $\beta$ -HSD zeigte bei den ISS-Probanden und der Kontrolle einen U-förmigen Verlauf mit der niedrigsten Aktivität bei den 9-12-14-Jährigen. Dies deutet auf einen Zusammenhang mit dem Pubertätseintritt hin. Dimitriou et al. stellten 2003 für die Aktivität von 11 $\beta$ -HSD 1 bei Mädchen einen Abfall mit Beginn der Pubertät fest, während bei den Jungen ein Abfall vor der Pubertät beobachtet wurde.

Wiegand et al. fanden 2007 in ihrer Studie an übergewichtigen und schlanken Kindern im Alter von 12-18 Jahren, die sich im Pubertätsstadium 2-5 nach Tanner befanden, eine höhere 11 $\beta$ -HSD-Aktivität mit steigendem Alter in beiden Gruppen. Nach dem

Pubertätseintritt zeigte sich auch bei den ISS-Probanden eine Zunahme der Aktivität mit steigendem Alter. Es konnte jedoch keine signifikante Korrelation zwischen Alter und  $11\beta$ -HSD-Aktivität festgestellt werden.

Anders als bei den o.g. beiden Enzymen verhielt es sich mit  $3\beta$ -HSD. Der Aktivitätsindex dieses Enzyms war in der ISS-Gruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant niedriger.

Wie schon bekannt, spielt  $3\beta$ -HSD über die Regulierung des DHEA bzw. DHEA-S eine wichtige Rolle bei der Adrenarche. Es wäre deshalb zu erwarten gewesen, dass im Adrenarchenalter, also in den Altersgruppen 7-10 Jahre, ein Abfall der  $3\beta$ -HSD-Aktivität zu verzeichnen gewesen wäre. Dies ist allerdings nur bei den Jungen der Fall.

## 4.5 Warum sind die Hormonausscheidungsraten bei ISS reduziert?

### 4.5.1 $3\beta$ -HSD

$3\beta$ -HSD zeigte als einziges der drei untersuchten Enzyme in dieser Arbeit einen signifikanten Unterschied bezüglich der Aktivität zwischen ISS-Probanden und Kontrollgruppe. Zudem hat dieses Enzym *sowohl* Einfluss auf die Adrenarche *als auch* (indirekt) auf die Cortisolsynthese (s. Abbildung 7).

Der Abfall der  $3\beta$ -HSD-Aktivität zu Beginn der Adrenarche begünstigt den *Anstieg* von DHEA. Es gibt keine Literaturangaben darüber, dass  $3\beta$ -HSD im weiteren Verlauf der Entwicklung die Sekretionsmenge von DHEA bzw. der anderen Androgene beeinflusst. Zudem verhalten sich  $3\beta$ -HSD-Aktivität und DHEA zu Beginn der Pubertät ja gegensätzlich zueinander. Die geringere  $3\beta$ -HSD-Aktivität bei den ISS-Probanden müsste dann eigentlich zu einer *erhöhten* DHEA-Sekretion führen, was hier ja nicht der Fall ist.

Somit können die reduzierten Hormonexkretionswerte bei ISS nicht mit der Aktivität der  $3\beta$ -HSD erklärt werden.

### 4.5.2 Leptin

Leptin, vom Griechischen „leptos“ (dünn), ist ein Hormon, das hauptsächlich von den weissen Fettzellen abgegeben wird und über die Stimulierung des Gehirns ein

Gleichgewicht zwischen Nahrungszufuhr und Energieverbrauch herstellt (Carter et al. 2013, Morris und Rui 2009). Leptin reduziert das Körpergewicht durch Zügelung des Appetits und Erhöhung des Energieverbrauchs (Morris und Rui 2009).

Eine weitere Wirkung des Leptins ist die Sekretionshemmung von Aldosteron, Cortisol und DHEA, die von Glasow et al. 1998 sowie von Glasow und Bornstein 2000 beschrieben wurde.

In der Arbeit von Wudy et al. 2005, in der dasselbe ISS-Kollektiv wie in dieser Arbeit untersucht wurde, lag die Leptinkonzentration im gesamten ISS-Kollektiv, bezogen auf Geschlecht, BMI, und Pubertätsstadium, signifikant höher als die Leptinkonzentration in der Normalbevölkerung ( $MW+0.39$  SDS,  $p<0,001$ ).

Aus o.g. Gründen könnte die Leptinkonzentration eine Erklärung für die verminderten Konzentrationen der Androgene und Steroidhormone im ISS-Kollektiv sein.

Auf welche Art und Weise wirkt das Leptin auf die adrenalen Hormone?

Glasow et al. beschrieben 1998 Folgendes: Über Rezeptoren im Hypothalamus reguliert das Leptin zwei Mechanismen. Zum einen ist dies das systemisch-sympathische / adrenomedulläre System, welches eng mit dem Fettzellen-Wachstum, der Insulin-Resistenz und mit der metabolischen Aktivität verknüpft ist. Zum anderen hat das Leptin Einfluss auf die hormonale Hypothalamus-Hypophyse-Nebennieren-Achse. In ihrer Arbeit konnten Glasow et al. 1998 durch RT-PCR den kompletten Leptin-Rezeptor mRNA und alle Isoformen Ob219.1-3, die beim Menschen vorkommen, in der Nebennierenrinde und im Nebennierenmark darstellen (wobei die Konzentration im Nebennierenmark deutlich geringer als in der –rinde war). Über diesen Rezeptor führte Leptin zu einer dosisabhängigen Reduktion einer ACTH-stimulierten adrenocorticalen Steroid-Sekretion. In einer weiteren Arbeit beschrieben Glasow und Bornstein 2000 ebenfalls den Nachweis von Leptin-Rezeptoren in der menschlichen NNR und den Einfluss der adrenalen Hormonausschüttung des Leptins über diese Rezeptoren.

In Kapitel 1.4.1 wurde bereits beschrieben, dass an der Steroidhormonsynthese Cytochrom P450-Enzyme beteiligt sind. Glasow et al. konnten 1998 nachweisen, dass die Expression des durch ACTH stimulierten Cytochrom P450 mRNA durch Leptin um 50% reduziert wurde. Interessanterweise wurde dieser Effekt besonders bei der  $17\alpha$ -

Hydroxylase beobachtet. Diese wird durch *Cytochrom P450 17* katalysiert und spielt eine wichtige Rolle in der Steroidhormonsynthese. Abbildung 2 (*Synthese der Steroidhormone*) veranschaulicht, dass die 17 $\alpha$ -Hydroxylase sowohl bei der DHEA- als auch bei der Cortisol-Synthese beteiligt ist: Sie wandelt Pregnenolon in 17OH-Pregnenolon um, aus welchem dann DHEA entsteht. Weiterhin wandelt sie Progesteron in 17OH-Progesteron um, welches über zwei Zwischenschritte (an denen 21-Hydroxylase mit *P450c21* und 11 $\beta$ -Hydroxylase mit *P450c11 $\beta$*  beteiligt sind) zu Cortisol wird.

Leider konnte in der vorliegenden Arbeit die Aktivität der 17 $\alpha$ -Hydroxylase zwischen dem ISS- und dem Normalkollektiv nicht verglichen werden, da keine Daten der Aktivität dieses Enzyms beim Normalkollektiv vorlagen. Dies wäre sicherlich für zukünftige Untersuchungen interessant.

Wichtig anzumerken ist, dass das Leptin selbst ursprünglich nicht im menschlichen Nebennierengewebe vorkommt.

Glasow et al. betonten außerdem, dass die in ihrer Arbeit verwendeten Leptin-Konzentrationen für die Stimulierungstests - diese betrugen 100-1000 ng/ml - im Bereich der in vivo-Konzentrationen für Leptin lagen.

In Kapitel 3.3 wurde bereits festgestellt, dass mit steigendem Alter und steigendem BMI auch die Hormonexkretion stieg. In Zusammenschau mit dem o.g. liegt die Vermutung nahe, dass die reduzierende Wirkung des Leptins auf die adrenale Hormonausschüttung mit steigendem Alter abnimmt. Gründe hierfür könnten z.B. eine verminderte Sekretion des Leptins mit steigendem Alter bei ISS sein oder eine veränderte Affinität zwischen Leptin und seinem Rezeptor.

**Abschließend kann somit formuliert werden, dass die verminderte Ausscheidung von Androgenen und Glucocorticoiden bei Kindern und Jugendlichen mit ISS wahrscheinlich auf die Regulierung der adrenalen Funktion durch das Leptin und seine spezifischen Rezeptoren in der Nebennierenrinde zurückzuführen ist.**

## **4.6 Diskussionen über Einflussfaktoren des ISS in der Literatur**

Wie bereits in der Einleitung gesehen, ist die Ätiologie der ISS komplex und noch nicht in ihrem vollen Spektrum ergründet. Im Folgenden sollen die möglichen Einflussfaktoren aufgeführt werden, die noch Bestandteil kontroverser Diskussionen sind.

### **4.6.1 Leptin und Ghrelin**

In der Literatur findet man widersprüchliche Angaben über die Leptinkonzentration bei ISS bzw. KEV.

Eine Studie von Bideci et al. 2002 ergab signifikant niedrigere Leptinspiegel bei Kindern mit KEV im Vergleich zur Kontrollgruppe. (Auch das IGF-1 war in der KEV-Gruppe dieser Studie erniedrigt). Dies steht im Widerspruch zu den Erkenntnissen von Wudy et al. 2005, die ja im ISS-Kollektiv signifikant höhere Leptinkonzentrationen als in der Normalbevölkerung fanden. Daneben zeigte sich bei Bideci et al. 2002 eine signifikante Korrelation zwischen Leptin-Spiegel und Körpergröße, Gewicht sowie BMI. Sie folgerten daraus, dass die geringe Körpergröße und die Pubertätsverzögerung bei KEV auf das niedrige Gewicht zurückzuführen sei, dessen Ursache sie wiederum in den erniedrigten Serum-Spiegeln von Leptin und IGF-1 sahen.

Ghrelin wird in den Mucosazellen des Magens produziert und stimuliert im ZNS den Appetit und die Nahrungsaufnahme (Verhulst und Depoortere 2012). Eine Studie von El-Eshmawy et al. 2010 ergab einen bei KEV-Jungen signifikant niedrigeren Serum-Spiegel für Leptin und höhere Spiegel für Ghrelin als im Normalkollektiv. Sie folgerten daraus, dass erhöhte Ghrelin- und erniedrigte Leptin-Spiegel in Kombination mit den Sexualhormonen bei adoleszenten Jungen mit KEV eine Rolle bei der sexuellen Unreife spielen könnte. Das Ergebnis dieser Studie bezüglich des Ghrelinspiegels bei KEV steht im Widerspruch zu den Studien von Wudy et al. 2005 sowie Şen et al. 2010, in denen die Serum-Ghrelin-Spiegel von Kindern und Jugendlichen mit ISS bzw. Jungen mit KEV keine Unterschiede zu einem Normalkollektiv aufwiesen.

Gill et al. fanden 1999 heraus, dass die Serum-Leptin-Konzentration in pubertierenden Jungen mit KEV im Vergleich zu vorpubertären Jungen mit KEV nicht signifikant erhöht waren. Im Gegensatz dazu waren die Serum-Leptin-Konzentrationen von

pubertierenden Jungen des Normalkollektivs signifikant höher als die der vorpubertären Jungen des Normalkollektivs. Sie schlossen daraus, dass der fehlende Anstieg der Leptinkonzentration eine Rolle bei der Pubertätsverzögerung spielen könnte.

#### **4.6.2 IGF-1**

Was das Längenwachstum betrifft, so ist bekannt, dass bei Kindern mit KEV das Serum-IGF niedriger ist als bei normalen Kindern. Lindgren et al. diskutierten 1996, dass der Kleinwuchs bei KEV-Kindern sowohl auf eine verminderte IGF-1-Synthese als auch auf eine geringere Bioverfügbarkeit des an IGFBP-3 gebundenen IGF-1 zurückzuführen ist. Rosenblum merkte 2009 an, dass die als zu niedrig bewerteten IGF-1-Konzentrationen bei Kindern und Jugendlichen mit ISS irrtümlicherweise als zu niedrig bewertet wurden, da die Werte auf das chronologische Alter und nicht auf das Knochenalter bezogen wurden. D.h., würde man die IGF-1-Konzentration bei einem Kind oder Jugendlichen mit ISS auf das Knochenalter beziehen, so wäre sie wahrscheinlich normwertig.

#### **4.6.3 Ernährung**

Wudy et al. fanden 2005 heraus, dass möglicherweise das Essverhalten den Kleinwuchs mitbegünstigt. Die Kinder und Jugendlichen des ISS-Kollektivs hatten weniger Freude am Essen als die Kontrollgruppe, aßen weniger, hatten weniger Durstgefühl und waren gegenüber dem Essen sehr wählerisch. Nahezu bei der Hälfte des untersuchten Kollektivs handelte es sich um schlechte Esser. Korrespondierend hierzu fanden Han et al. 2006 heraus, dass Jungen mit KEV einen höheren Energieverbrauch hatten, als die Jungen der altersentsprechenden Kontrollgruppe. Sie folgerten daraus, dass dieser erhöhte Metabolismus, ähnlich wie bei einer Unterernährung, verantwortlich für das langsame Wachstum bei KEV sein könnte.

Remer et al. stellten 2010 fest, dass eine erhöhte Aufnahme von tierischem Eiweiss zu einem früheren Pubertätswachstumsschub und früherem Erreichen der Spitzenhöhengeschwindigkeit führen kann.

## 4.7 Schlussfolgerung

Die Verminderte Exkretion von DHEA und seinen Metaboliten sowie der Glucocorticoidmetaboliten bei den ISS-Probanden lässt auch auf eine verminderte Sekretion dieser Hormone bei ihnen rückschließen.

Da DHEA eine wichtige Rolle bei der Adrenarche und somit auch bei der Pubarche spielt, kann eine verminderte Sekretion dieses Hormons durchaus mit einem verspäteten Pubertätseintritt assoziiert sein. Über die Glucocorticoid-Sekretion lässt sich vermutlich dasselbe sagen, da sie einen Einfluss auf den Pubertätseintritt zu haben scheint. Des Weiteren wurde eine positive Korrelation zwischen den Hormonen Größe, Gewicht und BMI beobachtet.

Somit lässt sich die Hypothese bestätigen, dass bei ISS, zumindest was DHEA und die Glucocorticoide betrifft, eine verminderte Steroidhormonsekretion vorliegt.

Dass Leptin einen Einfluss auf die adrenale Hormonausschüttung hat, steht außer Frage. Allerdings sind in Bezug auf die Leptinkonzentrationen bei Kindern und Jugendlichen mit ISS weitere Studien notwendig, da es hierüber keine einheitlichen Angaben in der Literatur gibt (s.o.).

Wie schon am Anfang betont, ist ISS keine Erkrankung sondern eine Normvariante des physiologischen Wachstums. Eine Therapie zur Beschleunigung des Längenwachstums bei den Jungen ist möglich aber eher von psychosozialer Bedeutung.

Die Erkenntnisse dieser Arbeit über die verminderte Sekretion von DHEA und den Glucocorticoidmetaboliten bei ISS sind nach jetzigem Kenntnisstand nicht für einen Therapieansatz zu verwerten.

Jedoch wurde ein weiterer Mosaikstein gefunden, der uns hilft, die Komplexität der Pathogenese von ISS zu hinter schauen.



## 5 Zusammenfassung

### Fragestellung:

Der Idiopathische Kleinwuchs (ISS) ist charakterisiert durch ein temporär langsames Wachstum und durch einen funktionellen Wachstumshormonmangel, ein retardiertes Knochenalter, einen verzögerten Pubertätseintritt sowie durch ein niedriges Gewicht bzw. BMI.

In der vorliegenden retrospektiven Studie wurde der Frage nachgegangen, ob bei Kindern und Adoleszenten mit ISS im Vergleich zu Kindern und Adoleszenten ohne ISS die Steroidhormonproduktion vermindert ist und dies eventuell eine Rolle in der Ätiologie von ISS spielen könnte.

### Probanden und Kontrollgruppe:

Es wurden die Steroidhormonexkretionsraten von 163 Kindern und Adoleszenten mit ISS (100 Jungen und 63 Mädchen) im Alter von 3-18 Jahren (ISS-Probanden) mit denen eines Normalkollektivs von 400 Kindern und Adoleszenten (200 Jungen und 200 Mädchen) aus der DONALD- (Dortmund Nutritional and Anthropometric Longitudinally Designed) Studie im Alter von 3-18 Jahren (Kontrollgruppe) verglichen.

### Material und Methodik:

Mittels Gaschromatographie-Massenspektrometrie (GC-MS) wurden 24-Stunden Harnsteroidhormonprofile der ISS-Probanden und der Kontrollgruppe erstellt.

Verglichen wurden zum einen die Exkretionswerte für die Androgene

Dehydroepiandrosteron (DHEA), DHEA und seinen Metaboliten (DHEA&M = DHEA+16 $\alpha$ -Hydroxy-DHEA+ Androstentriol-16 $\alpha$ ), Androstendiol-17 $\beta$  und für die große Summe der sieben Hauptandrogen-Metaboliten (C19 =

Androsteron+Etiocholanolon+DHEA+16 $\alpha$ -OH-DHEA+Androstendiol-17 $\alpha$ +Androstendiol-17 $\beta$ +Androstentriol-16 $\alpha$ ). Zum anderen wurden die drei wichtigsten Glucocorticoidmetaboliten Tetrahydrocortison (THE), Tetrahydrocortisol (THF) und allo(5 $\alpha$ )-Tetrahydrocortisol (a-THF) sowie die große Summe aus den sieben Hauptglucocorticoid-Metaboliten (C21 = THE+THF+a-THF+ $\alpha$ -Cortol+ $\alpha$ -Cortolon+ $\beta$ -Cortol+ $\beta$ -Cortolon) untersucht.

Ferner wurden ISS- und Kontrollgruppe bezüglich der Enzymaktivitäten der zwei wichtigsten Hormone im Cortisolmetabolismus verglichen: 5 $\alpha$ -Reductase (berechnet aus a-THF/THF) und 11 $\beta$ -Hydroxysteroiddehydrogenase (11 $\beta$ -HSD) [berechnet aus (a-

THF+THF)/THE]. Weiterhin wurde die Aktivität der  $3\beta$ -HSD (berechnet aus  $[DHEA+16\alpha\text{-OH-DHEA}+Androstentriol]/[Androsteron+Etiocholanolon]$ ) untersucht, welche mehrere Reaktionen im Steroidmetabolismus katalysiert und eine wichtige Rolle bei der Regulierung der Adrenarche spielt.

Aufgrund der hohen Spezifität des Verfahrens der GC-MS wurden zuverlässige Messwerte geliefert.

#### Ergebnisse:

Die Messungen ergaben in der statistischen Auswertung einen signifikanten Unterschied zwischen den Steroidhormonexkretionsraten der ISS-Probanden und denen der Kontrollgruppe: Die ISS-Probanden zeigten für die Androgene DHEA, seinen Metaboliten und C19 sowie für die Glucocorticoide THE, THF,  $\alpha$ -THF und C21 signifikant niedrigere Hormonexkretionsraten als die Kontrollgruppe ( $p < 0,05$ ). Ebenfalls zeigte sich eine signifikant niedrigere  $3\beta$ -HSD-Aktivität bei den ISS-Probanden. Bezüglich der Enzymaktivitäten von  $5\alpha$ -Reductase und  $11\beta$ -HSD ergaben sich keine signifikanten Unterschiede ( $5\alpha$ -Reductase:  $p=0,863$ ;  $11\beta$ -HSD:  $p=0,72$ ).

#### Interpretation:

Dies bestätigt die Hypothese, dass bei Kindern und Adoleszenten mit ISS eine verminderte Steroidhormonproduktion besteht, und zwar für DHEA und wichtige Glucocorticoide. Aufgrund des wichtigen Einflusses von DHEA auf die Adrenarche und die Pubarche sowie des Einflusses der Glucocorticoide auf Gewicht und BMI lässt sich ein Zusammenhang zwischen verminderter Steroidhormonproduktion und Entstehung der ISS vermuten. Bei der Regulierung der adrenalen Hormonausschüttung spielt das Hormon Leptin eine wichtige Rolle. Für die reduzierten Konzentrationen von DHEA und den Glucocorticoiden ist wahrscheinlich die Wirkung des Leptins auf Rezeptoren in der Nebennierenrinde verantwortlich.

#### Schlussfolgerung:

Das Hormon Leptin scheint eine wichtige Rolle in der Pathogenese des Idiopathischen Kleinwuchses zu spielen. Aufgrund der widersprüchlichen Angaben in der Literatur sind allerdings noch weitere Studien zur Analyse der Leptinkonzentration bei Kindern und Adoleszenten mit ISS notwendig.

## Summary

### The problem at stake:

Idiopathic short stature (ISS) is characterized by a temporary slow growth and a functional growth hormone deficiency, a delayed bone age, a delayed onset of puberty, as well as depressed weight, or rather BMI.

In the present retrospective study, we looked into the question of, whether with children and adolescents with ISS, in comparison to children and adolescents without ISS, there is a reduced steroid hormone production and, if this could play a role in the etiology of ISS.

### Test persons and control group:

We compared the steroid hormone excretion rates of 163 children and adolescents with ISS (100 boys and 63 girls) within the ages of 3 and 18 years (ISS-test persons) with those of a normal community of 400 children and adolescents (200 boys and 200 girls) from the Dortmund Nutritional and Anthropometric Longitudinally Designed (DONALD) study, within the ages of 3 and 18 years (control group).

### Material and Approach:

With the help of gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS), 24 hours urinary steroid profiles of the ISS-test persons and the control group had been established. Things to be compared, on the one hand, were the excretion values for the androgens dehydroepiandrosterone (DHEA), DHEA and its metabolites (DHEA&M=DHEA+16  $\alpha$ -hydroxy-DHEA+androstentriol-16 $\alpha$ ), androstenediol-17 $\beta$  and for the big sum of the seven main androgenic metabolites (C19=androsterone+etiocholanolone+DHEA+16 $\alpha$ -OH-DHEA+androstenediole-17 $\alpha$ +androstenediole-17 $\beta$ +androstentriol-16 $\alpha$ ). On the other hand, the three most important glucocorticoid metabolites tetrahydrocortisone (THE), tetrahydrocortisol (THF) and allo(5 $\alpha$ )-tetrahydrocortisol (a-THF) as well as the big sum from the seven main glucocorticoid-metabolites (C21=THE+THF+a-THF+ $\alpha$ -cortol+ $\alpha$ -cortolone+ $\beta$ -cortol  $\beta$ -cortolone) were examined.

In addition, the ISS group and the control group were compared on the basis of the enzyme activities of the two most important hormones in the cortisol metabolism: 5 $\alpha$ -reductase (calculated from a-THF/THF) and 11 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase (11 $\beta$ -HSD) [calculated from (a-THF+THF)/THE]. Furthermore, the 3 $\beta$ -HSD-activity, (calculated from [DHEA+16 $\alpha$ -OH-DHEA+androstentriol]/[androsterone+etiocholanolone]), was examined, which catalyzes

several reactions in the steroid metabolism and plays an important role with the regulation of adrenarche.

As a result of the high specificity of the procedure of GC-MS, reliable measuring values were arrived at.

#### Results:

The calculations resulted in the statistical evaluation a significant difference in the steroid hormone excretion rates of the ISS test persons group and the control group: In the ISS-group the excretion rates for the androgens DHEA, its metabolites and C19 as well as for the glucocorticoids THE, THF, a-THF and C21 were all significantly lower than in the control group ( $p < 0.05$ ).

Likewise, it presented itself a significantly depressed  $3\beta$ -HSD activity with the ISS test persons. Concerning the enzyme activities of  $5\alpha$ -reductase and  $11\beta$ -HSD, they unfolded no significant differences ( $5\alpha$ -reductase:  $p = 0.863$ ;  $11\beta$ -HSD:  $p = 0.72$ )

#### Interpretation:

This confirmed our hypothesis that there is a decreased steroid hormone production in children and youngsters with ISS, namely, DHEA and important glucocorticoids.

The important influence of DHEA on adrenarche and pubarche as well as the influence of glucocorticoids on weight and BMI lead to the assumption that there is an interrelationship between decreased steroid hormone production and the emergence of ISS. The hormone Leptin plays an important role with the distribution of the adrenal hormones. The effect of Leptin on receptors in the adrenal cortex is probably responsible for the decreased concentration of DHEA and the glucocorticoids.

#### Conclusion:

The hormone Leptin appears to play an important role in the pathogenesis of idiopathic short stature. As a result of the contradictory declarations in the literature, it is, however, important to conduct further studies into the analysis of the concentration of leptin in children and adolescents with ISS.

## 6 Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
ACRD	Apparent cortisone reductase deficiency
ACTH	Adrenocorticotropes Hormon
AME	Apparent-Mineralocorticoid-Excess
B	Brustentwicklung
BMI	Body mass index
BSG	Blutsenkungsgeschwindigkeit
CDGP	Constitutional delay of growth and puberty
cm	Zentimeter
CRH	Corticotropin Releasing Hormon
CRP	C-reaktives Protein
d	Tag
DHEA&M	DHEA und seine Metaboliten
DONALD	Dortmund Nutritional and Anthropometric Longitudinally Designed
DHT	Dihydrotestosteron
FSH	Follikel stimulierendes Hormon
FSS	Familial short stature
ft4	freies T4
G	Genitalentwicklung
GC	Glucocorticoide

GC-MS	Gaschromatographie-Massenspektrometrie
GFR	glomeruläre Filtrationsrate
GH	Growth Hormone
GnRH	Gonadotropin-Releasing Hormone
h	Stunde
HSD	Hydroxysteroiddehydrogenase
IGF	Insulin like growth factor
IGFBP	Insulin like growth factor binding protein
ISS	Idiopathic short stature
KEV	Konstitutionelle Entwicklungsverzögerung
kg	Kilogramm
KO	Körperoberfläche
LC-MS	Liquid chromatography mass spectrometry
LH	Luteinisierendes Hormon
m <sup>2</sup>	Quadratmeter
max.	Maximum
μ	mikro
μM	Mikromolar
min.	Minimum
ml	Milliliter
mRNA	messenger Ribonucleinsäure
MW	Mittelwert

NADP	Nikotinamid Adenin Dinucleotid Phosphat
NNR	Nebennierenrinde
OH	Hydroxylase
P	Pubesbehaarung
PCR	Polymerase Ketten Reaktion
RT	real time
s.	siehe
scc	side chain cleavage
sog.	sogenanntes
SD	Standard deviation
SDS	Standard deviation score
Tab.	Tabelle
vergl.	vergleiche
vs.	versus

## 7 Steroidnomenklatur

Fett gedruckt sind die in der vorliegenden Arbeit untersuchten Urinmetaboliten.

Abkürzung	Trivialname	Systematischer Name	Formel
<b>AD</b>		5 $\alpha$ -Androstan-3 $\alpha$ ,17 $\alpha$ -diol	C <sub>19</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>
<b>An</b>	<b>Androsteron</b>	5 $\alpha$ -Androstan-3 $\alpha$ -ol-17-on	C <sub>19</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>
<b>Et</b>	<b>Etiocolanolon</b>	5 $\beta$ -Androstan-3 $\alpha$ -ol-17-on	C <sub>19</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>
<b>A5-3<math>\beta</math>,17<math>\alpha</math></b>	<b>Androstendiol-17<math>\alpha</math></b>	5-Androsten-3 $\beta$ ,17 $\alpha$ -diol	C <sub>19</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>
<b>DHEA</b>	<b>Dehydroepiandrosteron</b>	5-Androsten-3 $\beta$ -ol-17-on	C <sub>19</sub> H <sub>28</sub> O <sub>2</sub>
<b>A5-3<math>\beta</math>,17<math>\beta</math></b>	<b>Androstendiol-17<math>\beta</math></b>	5-Androsten-3 $\beta$ ,17 $\beta$ -diol	C <sub>19</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>
<b>11-O-An</b>	11-Oxo-Androsteron	5 $\alpha$ -Androstan-3 $\alpha$ -ol-11,17-dion	C <sub>19</sub> H <sub>28</sub> O <sub>3</sub>
<b>T</b>	Testosteron	4-Androsten-17 $\beta$ -ol-3-on	C <sub>19</sub> H <sub>28</sub> O <sub>2</sub>
<b>Po-5<math>\beta</math>,3<math>\alpha</math></b>	5 $\beta$ ,3 $\alpha$ -Pregnanolon	5 $\beta$ -Pregnan-3 $\alpha$ ,17 $\alpha$ -diol-20-on	C <sub>21</sub> H <sub>34</sub> O <sub>3</sub>
<b>11-OH-An</b>	11-Hydroxyandrosteron	5 $\alpha$ -Androstan-3 $\alpha$ ,11 $\beta$ -diol-17-on	C <sub>19</sub> H <sub>30</sub> O <sub>3</sub>
<b>11-OH-Et</b>	11-Hydroxyetiocolanolon	5 $\beta$ -Androstan-3 $\alpha$ ,11 $\beta$ -diol-17-on	C <sub>19</sub> H <sub>30</sub> O <sub>3</sub>
<b>Po-5<math>\alpha</math>,3<math>\alpha</math></b>	17 $\alpha$ -Hydroxypregnanolon	5 $\alpha$ -Pregnan-3 $\alpha$ ,17 $\alpha$ -diol-20-on	C <sub>21</sub> H <sub>34</sub> O <sub>3</sub>
<b>16<math>\alpha</math>-OH-DHEA</b>	<b>16<math>\alpha</math>-Hydroxy-DHEA</b>	5-Androsten-3 $\beta$ ,16 $\alpha$ -diol-17-on	C <sub>19</sub> H <sub>28</sub> O <sub>3</sub>
<b>PD</b>	Pregnandiol	5 $\beta$ -Pregnan-3 $\alpha$ ,20 $\alpha$ -diol	C <sub>21</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>
<b>PT</b>	Pregnantriol	5 $\beta$ -Pregnan-3 $\alpha$ ,17 $\alpha$ ,20 $\alpha$ -triol	C <sub>21</sub> H <sub>36</sub> O <sub>3</sub>
<b>P5D</b>	Pregnendiol	5-Pregnen-3 $\beta$ ,20 $\alpha$ -diol	C <sub>21</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>
<b>A5T-16<math>\alpha</math></b>	<b>Androstentriol-16<math>\alpha</math></b>	5-Androsten-3 $\beta$ ,16 $\alpha$ ,17 $\beta$ -triol	C <sub>19</sub> H <sub>30</sub> O <sub>3</sub>
<b>THS</b>	Tetrahydro-11-desoxycortisol	5 $\beta$ -Pregnan-3 $\alpha$ ,17 $\alpha$ ,21-triol-20-on	C <sub>21</sub> H <sub>34</sub> O <sub>4</sub>
<b>11-O-PT</b>	11-Oxo-Pregnantriol	5 $\beta$ -Pregnan-3 $\alpha$ ,17 $\alpha$ ,20 $\alpha$ -triol-11-on	C <sub>21</sub> H <sub>34</sub> O <sub>4</sub>
<b>P5T-17<math>\alpha</math></b>	Pregnentriol-17 $\alpha$	5-Pregnen-3 $\beta$ ,17 $\alpha$ ,20 $\alpha$ -triol	C <sub>21</sub> H <sub>34</sub> O <sub>3</sub>
<b>THE</b>	<b>Tetrahydrocortison</b>	5 $\beta$ -Pregnan-3 $\alpha$ ,17 $\alpha$ ,21-triol-11,20-dion	C <sub>21</sub> H <sub>32</sub> O <sub>5</sub>
<b>THA</b>	Tetrahydro-11dehydro-Corticosteron	5 $\beta$ -Pregnan-3 $\alpha$ ,21-diol-11,20-dion	C <sub>21</sub> H <sub>32</sub> O <sub>4</sub>
<b>THB</b>	Tetrahydrocorticosteron	5 $\beta$ -Pregnan-3 $\alpha$ ,11 $\beta$ ,21-triol-20-on	C <sub>21</sub> H <sub>34</sub> O <sub>4</sub>
<b>a-THB</b>	5 $\alpha$ -Tetrahydrocorticosteron	5 $\alpha$ -Pregnan-3 $\alpha$ ,11 $\beta$ ,21-triol-20-on	C <sub>21</sub> H <sub>34</sub> O <sub>4</sub>
<b>THF</b>	<b>Tetrahydrocortisol</b>	5 $\beta$ -Pregnan-3 $\alpha$ ,11 $\beta$ ,17 $\alpha$ ,21-tetrol-20-on	C <sub>21</sub> H <sub>34</sub> O <sub>5</sub>
<b>a-THF</b>	<b>5<math>\alpha</math>-Tetrahydrocortisol</b>	5 $\alpha$ -Pregnan-3 $\alpha$ ,11 $\beta$ ,17 $\alpha$ ,21-tetrol-20-on	C <sub>21</sub> H <sub>34</sub> O <sub>5</sub>
<b><math>\alpha</math>-Cl</b>	<b><math>\alpha</math>-Cortolon</b>	5 $\beta$ -Pregnan-3 $\alpha$ ,17 $\alpha$ ,20 $\alpha$ ,21-tetrol-11-on	C <sub>21</sub> H <sub>34</sub> O <sub>5</sub>
<b><math>\beta</math>-C</b>	<b><math>\beta</math>-Cortol</b>	5 $\beta$ -Pregnan-3 $\alpha$ ,11 $\beta$ ,17 $\alpha$ ,20 $\beta$ ,21-pentol	C <sub>21</sub> H <sub>36</sub> O <sub>5</sub>
<b><math>\beta</math>-Cl</b>	<b><math>\beta</math>-Cortolon</b>	5 $\beta$ -Pregnan-3 $\alpha$ ,17 $\alpha$ ,20 $\beta$ ,21-tetrol-11-on	C <sub>21</sub> H <sub>34</sub> O <sub>5</sub>
<b><math>\alpha</math>-C</b>	<b><math>\alpha</math>-Cortol</b>	5 $\beta$ -Pregnan-3 $\alpha$ ,11 $\beta$ ,17 $\alpha$ ,20 $\alpha$ ,21-pentol	C <sub>21</sub> H <sub>36</sub> O <sub>5</sub>
<b>F</b>	Cortisol	4-Pregnen-11 $\beta$ ,17 $\alpha$ ,21-triol-3,20-dion	C <sub>21</sub> H <sub>30</sub> O <sub>5</sub>
<b>6<math>\beta</math>-OH-F</b>	6 $\beta$ -Hydrocortisol	4-Pregnen-6 $\beta$ ,11 $\beta$ ,17 $\alpha$ ,21-tetrol,3,20-dion	C <sub>21</sub> H <sub>30</sub> O <sub>6</sub>
<b>20<math>\alpha</math>-DHF</b>	20 $\alpha$ -Dihydrocortisol	4-Pregnen-11 $\beta$ ,17 $\alpha$ ,20 $\alpha$ ,21-tetrol-3-on	C <sub>21</sub> H <sub>32</sub> O <sub>5</sub>



## 8 Abbildungs- und Tabellenverzeichnis

<b>Abbildung 1:</b> Struktur des Cholesterins .....	8
<b>Abbildung 2:</b> Synthese der Steroidhormone .....	10
<b>Abbildung 3:</b> Abbauwege des 17-Hydroxypregnenolons .....	12
<b>Abbildung 4:</b> Metabolismus von DHEA, DHEA-S, Androstendion und Testosteron .	15
<b>Abbildung 5:</b> Die 4 Hauptmetaboliten von Cortisol und Cortison .....	17
<b>Abbildung 6:</b> Cortisolmetabolismus und die daran beteiligten Enzyme .....	20
<b>Abbildung 7:</b> Übersicht über den Steroidmetabolismus mit den Wirkungsweisen der Enzyme 3 $\beta$ -HSD, 5 $\alpha$ -Reductase und 11 $\beta$ -HSD .....	21
<b>Abbildung 8:</b> Prinzip des gaschromatographischen Analysenvorgangs .....	25
<b>Abbildung 9:</b> Funktionelle Komponenten eines Massenspektrometers.....	26
<b>Abbildung 10:</b> Fehlerbalken .....	36
<b>Abbildung 11:</b> Box-and-Whisker-Plot.....	36
<b>Abbildung 12:</b> Exkretionsraten der ISS-Probanden und der Kontrollgruppe für DHEA in $\mu\text{g/d}$ - Jungen.....	38
<b>Abbildung 13:</b> Exkretionsraten der ISS-Probanden und der Kontrollgruppe für DHEA in $\mu\text{g/d}$ - Mädchen .....	39
<b>Abbildung 14:</b> DHEA SDS .....	40
<b>Abbildung 15:</b> Exkretionsraten der ISS-Probanden und der Kontrollgruppe für DHEA&M in $\mu\text{g/d}$ - Jungen .....	41
<b>Abbildung 16:</b> Exkretionsraten der ISS-Probanden und der Kontrollgruppe für DHEA&M in $\mu\text{g/d}$ - Mädchen .....	42
<b>Abbildung 17:</b> DHEA&M SDS .....	44
<b>Abbildung 18:</b> Exkretionsraten der ISS-Probanden und der Kontrollgruppe für DHEA&M/KO in $\mu\text{g/d}$ - Jungen .....	45
<b>Abbildung 19:</b> Exkretionsraten der ISS-Probanden und der Kontrollgruppe für DHEA&M/KO in $\mu\text{g/d}$ - Mädchen .....	46
<b>Abbildung 20:</b> DHEA&M/KO SDS .....	47
<b>Abbildung 21:</b> Exkretionsraten der ISS-Probanden und der Kontrollgruppe für Androstendiol-17 $\beta$ $\mu\text{g/d}$ - Jungen.....	49
<b>Abbildung 22:</b> Exkretionsraten der ISS-Probanden und der Kontrollgruppe für Androstendiol-17 $\beta$ in $\mu\text{g/d}$ - Mädchen .....	50
<b>Abbildung 23:</b> Androstendiol 17 $\beta$ -SDS.....	51
<b>Abbildung 24:</b> Exkretionsrate der ISS-Probanden und der der Kontrollgruppe für C19 in $\mu\text{g/d}$ - Jungen.....	52
<b>Abbildung 25:</b> Exkretionsraten der ISS-Probanden und der Kontrollgruppe für C19 in $\mu\text{g/d}$ - Mädchen .....	53
<b>Abbildung 26:</b> C19 SDS .....	54
<b>Abbildung 27:</b> Exkretionsraten der ISS-Probanden und der Kontrollgruppe für THE in $\mu\text{g/d}$ – Jungen .....	55
<b>Abbildung 28:</b> Exkretionsraten der ISS-Probanden und der Kontrollgruppe für THE in $\mu\text{g/d}$ - Mädchen .....	57
<b>Abbildung 29:</b> THE SDS .....	58
<b>Abbildung 30:</b> Exkretionsraten der ISS-Probanden und der Kontrollgruppe für THF in $\mu\text{g/d}$ - Jungen.....	59
<b>Abbildung 31:</b> Exkretionsraten der ISS-Probanden und der Kontrollgruppe für THF in $\mu\text{g/d}$ - Mädchen .....	60

<b>Abbildung 32:</b> THF SDS .....	62
<b>Abbildung 33:</b> Exkretionsraten der ISS-Probanden und der Kontrollgruppe für a-THF in µg/d - Jungen.....	63
<b>Abbildung 34:</b> Exkretionsraten der ISS-Probanden und der Kontrollgruppe für a-THF in µg/d - Mädchen .....	64
<b>Abbildung 35:</b> a-THF SDS .....	65
<b>Abbildung 36:</b> Exkretionsraten der ISS-Probanden und der Kontrollgruppe für GC in µg/d – Jungen .....	66
<b>Abbildung 37:</b> Exkretionsraten der ISS-Probanden und der Kontrollgruppe für GC in µg/d - Mädchen .....	68
<b>Abbildung 38:</b> GC SDS .....	70
<b>Abbildung 39:</b> Exkretionsraten der ISS-Probanden und der Kontrollgruppe für GC/KO in µg/d - Jungen.....	71
<b>Abbildung 40:</b> Exkretionsraten der ISS-Probanden und der Kontrollgruppe für GC/KO in µg/d – Mädchen .....	73
<b>Abbildung 41:</b> GC/KO SDS.....	75
<b>Abbildung 42:</b> Exkretionsraten der ISS-Probanden und der Kontrollgruppe für C21 in µg/d- Jungen.....	76
<b>Abbildung 43:</b> Exkretionsraten der ISS-Probanden und der Kontrollgruppe für C21 in µg/d- Mädchen .....	77
<b>Abbildung 44:</b> C21 SDS .....	79
<b>Abbildung 45:</b> Exkretionsraten von C21/KO in µg/d bei den ISS-Probanden und in der Kontrollgruppe - Jungen.....	80
<b>Abbildung 46:</b> Exkretionsraten von C21/KO in µg/d bei den ISS-Probanden und in der Kontrollgruppe - Mädchen .....	82
<b>Abbildung 47:</b> C21/KO SDS .....	84
<b>Abbildung 48:</b> Enzymaktivität der 5α-Reductase bei den ISS-Probanden und in der Kontrollgruppe - Jungen.....	85
<b>Abbildung 49:</b> Enzymaktivität der 5α-Reductase bei den ISS-Probanden und in der Kontrollgruppe - Mädchen .....	86
<b>Abbildung 50:</b> 5α-Reductase SDS .....	87
<b>Abbildung 51:</b> Enzymaktivität der 11β-HSD bei den ISS-Probanden und in der Kontrollgruppe - Jungen.....	88
<b>Abbildung 52:</b> Enzymaktivität der 11β-HSD bei den ISS-Probanden und in der Kontrollgruppe - Mädchen .....	89
<b>Abbildung 53:</b> 11β-HSD SDS.....	90
<b>Abbildung 54:</b> Enzymaktivität der 3β-HSD bei den ISS-Probanden und in der Kontrollgruppe - Jungen.....	91
<b>Abbildung 55:</b> Enzymaktivität der 3β-HSD bei den ISS-Probanden und in der Kontrollgruppe - Mädchen .....	92
<b>Abbildung 56:</b> 3β-HSD SDS.....	93

<b>Tabelle 1:</b> Einteilung der Pubertätsstadien nach Tanner	6
<b>Tabelle 2:</b> Abkürzung und Herkunft der wichtigsten Urinsteroidmetaboliten	23
<b>Tabelle 3:</b> Geschlechts- und Altersverteilung der ISS-Probanden	28
<b>Tabelle 4:</b> Anthropometrische Daten der ISS- Jungen	28
<b>Tabelle 5:</b> Anthropometrische Daten der ISS-Mädchen	28
<b>Tabelle 6:</b> Geschlechts- und Altersverteilung der Kontrollgruppe	30
<b>Tabelle 7:</b> Anthropometrische Daten der Kontrollgruppe – Jungen	30
<b>Tabelle 8:</b> Anthropometrische Daten der Kontrollgruppe –Mädchen	31
<b>Tabelle 9:</b> p-Werte des Einstichproben-t-Tests (Jungen)	31
<b>Tabelle 10:</b> p-Werte des Einstichproben-t-Tests (Mädchen)	32
<b>Tabelle 11:</b> Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen (SD) der Exkretionsraten der ISS-Probanden und der Kontrollgruppe für DHEA in $\mu\text{g/d}$ - Jungen	38
<b>Tabelle 12:</b> Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen (SD) der Exkretionsraten der ISS-Probanden und der Kontrollgruppe für DHEA in $\mu\text{g/d}$ - Mädchen	39
<b>Tabelle 13:</b> DHEA SDS	40
<b>Tabelle 14:</b> Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen (SD) der Exkretionsraten der ISS-Probanden und der Kontrollgruppe für DHEA&M in $\mu\text{g/d}$ - Jungen	41
<b>Tabelle 15:</b> Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen (SD) der Exkretionsraten der ISS-Probanden und der Kontrollgruppe für DHEA&M in $\mu\text{g/d}$ - Mädchen	42
<b>Tabelle 16:</b> DHEA&M SDS	44
<b>Tabelle 17:</b> Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen (SD) der Exkretionsraten der ISS-Probanden und der Kontrollgruppe für DHEA&M/KO in $\mu\text{g/d}$ - Jungen	45
<b>Tabelle 18:</b> Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen (SD) der Exkretionsraten der ISS-Probanden und der Kontrollgruppe für DHEA&M/KO in $\mu\text{g/d}$ - Mädchen	46
<b>Tabelle 19:</b> DHEA&M/KO SDS	47
<b>Tabelle 20:</b> Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen (SD) der Exkretionsraten der ISS-Probanden und der Kontrollgruppe für Androstendiol-17 $\beta$ $\mu\text{g/d}$ - Jungen	49
<b>Tabelle 21:</b> Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen (SD) der Exkretionsraten der ISS-Probanden und der Kontrollgruppe für Androstendiol-17 $\beta$ in $\mu\text{g/d}$ - Mädchen	50
<b>Tabelle 22:</b> Androstendiol 17- $\beta$ SDS	51
<b>Tabelle 23:</b> Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen (SD) der Exkretionsrate der ISS-Probanden und der der Kontrollgruppe für C19 in $\mu\text{g/d}$ - Jungen	52
<b>Tabelle 24:</b> Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen (SD) der Exkretionsraten der ISS-Probanden und der Kontrollgruppe für C19 in $\mu\text{g/d}$ - Mädchen	53
<b>Tabelle 25:</b> C19 SDS	54
<b>Tabelle 26:</b> Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen (SD) der Exkretionsraten der ISS-Probanden und der Kontrollgruppe für THE in $\mu\text{g/d}$ – Jungen	55
<b>Tabelle 27:</b> Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen (SD) der Exkretionsraten der ISS-Probanden und der Kontrollgruppe für THE in $\mu\text{g/d}$ - Mädchen	57
<b>Tabelle 28:</b> THE SDS	58
<b>Tabelle 29:</b> Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen (SD) der Exkretionsraten der ISS-Probanden und der Kontrollgruppe für THF in $\mu\text{g/d}$ - Jungen	59
<b>Tabelle 30:</b> Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen (SD) der Exkretionsraten der ISS-Probanden und der Kontrollgruppe für THF in $\mu\text{g/d}$ - Mädchen	60
<b>Tabelle 31:</b> THF SDS	62
<b>Tabelle 32:</b> Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen (SD) der Exkretionsraten der ISS-Probanden und der Kontrollgruppe für a-THF in $\mu\text{g/d}$ - Jungen	63
<b>Tabelle 33:</b> Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen (SD) der Exkretionsraten der ISS-Probanden und der Kontrollgruppe für a-THF in $\mu\text{g/d}$ - Mädchen	64
<b>Tabelle 34:</b> a-THF SDS	65

<b>Tabelle 35:</b> Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen (SD) der Exkretionsraten der ISS-Probanden und der Kontrollgruppe für GC in $\mu\text{g/d}$ – Jungen	66
<b>Tabelle 36:</b> Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen (SD) der Exkretionsraten der ISS-Probanden und der Kontrollgruppe für GC in $\mu\text{g/d}$ - Mädchen	68
<b>Tabelle 37:</b> SDS	70
<b>Tabelle 38:</b> Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen (SD) der Exkretionsraten der ISS-Probanden und der Kontrollgruppe für GC/KO in $\mu\text{g/d}$ - Jungen	71
<b>Tabelle 39:</b> Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen (SD) der Exkretionsraten der ISS-Probanden und der Kontrollgruppe für GC/KO in $\mu\text{g/d}$ – Mädchen	73
<b>Tabelle 40:</b> GC/KO SDS	75
<b>Tabelle 41:</b> Mittelwerte und Standardabweichungen (SD) der Exkretionsraten der ISS-Probanden und der Kontrollgruppe für C21 in $\mu\text{g/d}$ - Jungen	76
<b>Tabelle 42:</b> Mittelwerte und Standardabweichungen (SD) der Exkretionsraten der ISS-Probanden und der Kontrollgruppe für C21 in $\mu\text{g/d}$ - Mädchen	77
<b>Tabelle 43:</b> C21 SDS	79
<b>Tabelle 44:</b> Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen (SD) für die Exkretionsraten von C21/KO in $\mu\text{g/d}$ bei den ISS-Probanden und in der Kontrollgruppe - Jungen	80
<b>Tabelle 45:</b> Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen (SD) für die Exkretionsraten von C21/KO in $\mu\text{g/d}$ bei den ISS-Probanden und in der Kontrollgruppe - Mädchen	82
<b>Tabelle 46:</b> C21/KO SDS	84
<b>Tabelle 47:</b> Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen (SD) für die Enzymaktivität der $5\alpha$ -Reductase bei den ISS-Probanden und in der Kontrollgruppe - Jungen	85
<b>Tabelle 48:</b> Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen (SD) für die Enzymaktivität der $5\alpha$ -Reductase bei den ISS-Probanden und in der Kontrollgruppe - Mädchen	86
<b>Tabelle 49:</b> $5\alpha$ -Reductase SDS	87
<b>Tabelle 50:</b> Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen (SD) für die Enzymaktivität der $11\beta$ -HSD bei den ISS-Probanden und in der Kontrollgruppe - Jungen	88
<b>Tabelle 51:</b> Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen (SD) für die Enzymaktivität der $11\beta$ -HSD bei den ISS-Probanden und in der Kontrollgruppe - Mädchen	89
<b>Tabelle 52:</b> $11\beta$ -HSD SDS	90
<b>Tabelle 53:</b> Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen (SD) für die Enzymaktivität der $3\beta$ -HSD bei den ISS-Probanden und in der Kontrollgruppe - Jungen	91
<b>Tabelle 54:</b> Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen (SD) für die Enzymaktivität der $3\beta$ -HSD bei den ISS-Probanden und in der Kontrollgruppe - Mädchen	92
<b>Tabelle 55:</b> $3\beta$ -HSD SDS	93
<b>Tabelle 56:</b> Ergebnisse der linearen Regression mit den Hormonexkretionsraten bzw. Enzymaktivitäten als abhängigen Größen und Alter bzw. BMI als erklärender Variable	100

## 9 Literaturverzeichnis

- **Auchus RJ, Rainey WE:** Adrenarche – physiology, biochemistry and human disease. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 60 (3): 288-296 (2004).
- **Azzouni F, Godoy A, Li Y, Mohler J:** The 5 Alpha-Reductase Isozyme Family: A Review of Basic Biology and Their Role in Human Diseases. *Adv Urol.*: 530121 (2012).
- **Baumann T:** Atlas der Entwicklungsdiagnostik: S. 99 (2007).
- **Bideci A, Clinaz P, Hasanoglu A, Tumer L:** Leptin, insulin-like growth factor (IGF)-I and IGF binding protein-3 levels in children with constitutional delay of growth. *J Pediatric Endocrinol Metab* 15 (1): 41 (2002).
- **Cano B, de Oya M, Benevente M, Virutto E, de Oya I, López-Simón L, Fernandez O, Garcès C:** Dehydroepiandrosterone sulfate (DHEA-S) distribution in Spanish prepuberal children: relationship with fasting plasma insulin concentration and insulin resistance. *Clin Chim Acta*, 366 (1-2): 163-167 (2006).
- **Chapman K, Holmes M, Seckl J:** 11 $\beta$ -Hydroxysteroid Dehydrogenases: Intracellular Gate-Keepers of Tissue Glucocorticoid Action. *Physiol Rev.* 93(3): 1139–1206 (2013).
- **Chin D, Shackleton C, Prasad VK, Kohn B, David R, Imperato-McGinley J, Cohen H, McMahon DJ, Oberfield SE:** Increased 5 $\alpha$ -reductase and normal 11 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase metabolism of C19 and C21 steroids in young population with polycystic ovarian syndrome. *J Pediatric Endocrinol Metab* 13: 253-259 (2000).
- **Csábi G, Juricskay S, Molnár D:** Urinary cortisol to cortisone metabolites in hypertensive obese children. *J Endocrinol Invest* 23: 435-439 (2000).
- **Dimitriou T, Maser-Gluth C, Remer T:** Adrenocortical activity in healthy children is associated with fat mass. *Am J Clin Nutr.* 77(3):731-6 (2003).
- **Dunkel L:** Use of aromatase inhibitor to increase final height. *Moll Cell Endocrinol* 25: 254-255:207-16 (2006).
- **El-Eshmawy MM, Abdel Aal IA, El Hawary AK:** Association of ghrelin and leptin with reproductive hormones in constitutional delay of growth and puberty. *Reproductive Biology and Endocrinology* 8: 153 (2010).

- **Fraser R, Ingram MC, Anderson NH, Morrison C, Davies E, Connell JMC:** Cortisol effects on body mass, blood pressure, and cholesterol in the general population. *Hypertension* 33: 1364-1368 (1999).
- **Gill MS, Hall CM, Tillmann V, Clayton UK:** Constitutional delay of growth and puberty (CDGP) is associated with hypoleptinaemia. *Clin Endocrinol (Oxf)* 50 (6): 721-726 (1999).
- **Glasow A, Bornstein SR:** Leptin and the adrenal gland. *Eur J Clin Invest.* 30 Suppl 3:39-45 (2000).
- **Glasow A, Haidan A, Hilbers U, Breidert M, Gillespie J, Scherbaum WA, Chrousos GP, Bornstein SR:** Expression of Ob receptor in normal human adrenals: differential regulation of adrenocortical and adrenomedullary function by leptin. *J Clin Endocrinol Metab.* 83(12): 4459-66 (1998).
- **Goad LJ:** Cholesterol Biosynthesis and Metabolism. In Makin HLJ: *Biochemistry of Steroid Hormones:* 20-63. Blackwell Scientific Publications (1984).
- **Gower DB:** Steroid Catabolism and Urinary Excretion. In Makin HLJ: *Biochemistry of Steroid Hormones:* 349-382. Blackwell Scientific Publications (1984).
- **Han JC, Prabharakan B, Sweeten S, Darmaun D, Mauras N:** Evidence for Hypertmetabolism in Boys with Constitutional Delay of Growth and Maturation. *J Clin Endocrinol Metab* 91(6): 2081-2086 (2006).
- **Havelock JC, Auchus RJ, Rainey WE:** The rise in adrenal androgen biosynthesis: adrenarche. *Semin Reprod Med.* 22 (4): 337-347 (2004).
- **Idkowiak J, Lavery GG, Dhir V, Barrett TG, Stewart PM, Krona N, Arlt W:** Premature adrenarche: novel lessons from early onset androgen excess. *European Journal of Endocrinology* 165: 189-207 (2011).
- **Jiang YJ, Chen LQ, Liang L, Zou CC, Zhu H, Fu JF, Zhao ZY:** Relationship between serum dehydroepiandrosterone levels and female precocious puberty. *Zhejiang Da Xue Bao Yi Xue Ban*, 34 (4): 308-311, 319 (2005).
- **Krajewska-Siuda E, Malecka-Tendera E, Krajewski-Siuda K:** Influence of different parameters on final height of boys with constitutional delay of growth and puberty. *Endokrynol Dabetol Chor Przemlany Mterii Wieku Rozw* 12 (3): 159-162 (2006).
- **Krone N, Hughes BA, Lavery GG, Stewart PM, Arlt W, Shackelton CHL:** Gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS) remains a pre-

eminent discovery tool in clinical steroid investigations even in the era of fast liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC/MS/MS). *J Steroid Biochem Mol Biol* 121: 496-504 (2010).

- **Kushnir MM, Rockwood AL, Roberts WL, Yue B, Bergquist J, Meikle AW:** Liquid chromatography tandem mass spectrometry for analysis of steroids in clinical laboratories. *Clin Biochem* 44(1): 77-88 (2011).
- **Land C:** Vorzeitiger, verspäteter und ausbleibender Pubertätsbeginn. *Monatsschr Kinderheilkd* 160: 626-637 (2012).
- **Lanes R:** Constitutional delay of growth and pubertal development: growth hormone secretory pattern and possible therapy. *Pediatrician* 14 (3): 168-171 (1987).
- **Lindgren BF, Segovia B, Lassare C, Binoux M, Gourmelen M:** Growth retardation in constitutional short children is related both to low serum levels of insulin-like growth factor-I and to its reduced bioavailability. *Growth Regul* 6 (3): 158-164 (1996).
- **Löffler G:** *Basiswissen, Biochemie mit Pathobiochemie*. Springer-Verlag, 3. Auflage: 479 (1999).
- **Luca De F, Argente J, Cavallo L, Crowne E, Delemarre-Van de Waal HA, De Sanctis C, Di Maio S, Norjavaara E, Oostdijk W, Severi F, Tonini G, Trifirò G, Voorhoeve PG, Wu F:** Management of Puberty in Constitutional Delay of Growth and Puberty. *J Pediatric Endocrinol Metab* 14: 953-957 (2001).
- **Miller WL, Auchus RJ:** The Molecular Biology, Biochemistry, and Physiology of Human Steroidogenesis and Its Disorders. *Endocr Rev*. 32(1): 81–151 (2011).
- **Morris DL, Rui L:** Recent advances in understanding leptin signaling and leptin resistance. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 297(6): E1247-59 (2009).
- **Pedicelli S, Peschiaroli E, Violi E, Cianfarani S:** Controversies in the Definition and Treatment of Idiopathic Short Stature (ISS). *J Clin Res Ped Endo* 1(3): 105-115 (2009).
- **Prader A:** Normal growth and disorders of growth in children and adolescents. *Klin Wochenschr*. 59 (17): 977-984 (1981).
- **Rauh M:** Steroid measurement with LC-MS/MS. Application examples in pediatrics. *J Steroid Biochem Mol Biol* 121 (3-5): 520-7 (2010).

- **Rege J, Rainey WE:** The Steroid Metabolome of Adrenarche. *J Endocrinol.* 214(2): 133–143 (2012).
- **Remer T, Boye KR, Hartmann MF, Wudy SA:** Urinary Markers of Adrenarche: Reference Values in Healthy Subjects, Aged 3-18. *J Clin Endocrinol Metab* 90 (4): 2015-2021 (2005).
- **Remer T, Shi L, Buyken AE, Maser-Gluth C, Hartmann MF, Wudy SA:** Prepubertal adrenarchal androgens and animal protein intake independently and differentially influence pubertal timing. *J Clin Endocrinol Metab* 95 (6): 3002-3009 (2010).
- **Rosenbloom AL:** Idiopathic Short Stature: Conundrums of Definition and Treatment. *Int J Pediatr Endocrinol:* 470378 (2009).
- **Sedlmeyer I, Palmert M:** Delayed Puberty: Analysis of a Large Case Series from an Academic Center. *J Clin Endocrinol Metab* 87 (4): 1613-1620 (2002).
- **Sedlmeyer I, Hirschhorn J, Palmert M:** Pedigree analysis of constitutional delay of growth and maturation: determination of familial aggregation and inheritance patterns. *J Clin Endocrinol Metab* 87: 5581-5586 (2002).
- **Şen TA, Şimşek DG, Darcan Ş, Çoker M:** Ghrelin Levels in Children with Constitutional Delay of Growth and Puberty. *J Clin Res Ped Endo* 2 (3): 117-121 (2010).
- **Thomas JL, Rajapaksha M, Mack VL, DeMars GA, Majzoub JA, Bose HS:** Regulation of Human  $\beta$ -Hydroxysteroid Dehydrogenase Type 2 by Adrenal Corticosteroids and Product-Feedback by Androstenedione in Human Adrenarche. *J Pharmacol Exp Ther.* 352 (1): 67–76 (2015).
- **Topor LS, Asai M, Dunn J, Majzoub JA:** Cortisol stimulates secretion of dehydroepiandrosterone in human adrenocortical cells through inhibition of 3 $\beta$ HSD2. *J Clin Endocrinol Metab* 96 (1): E31-9 (2011).
- **Verhulst P, Depoortere I:** Ghrelin's second life: From appetite stimulator to glucose regulator. *World J Gastroenterol.* 18(25): 3183–3195 (2012).
- **Volta C, Ghizzoni L, Buono T, Ferrari F, Virdis R, Bernasconi S:** Final height in a group of unrelated children with constitutional growth delay. *Helv Paediatr Acta* 43 (3): 171-176 (1988).
- **Wiegand S, Richardt A, Remer T, Wudy SA, Tomlinson JW, Hughes B, Grüters A, Stewart PM, Strasburger CJ, Quinkler M:** Reduced 11 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 activity in obese boys. *Eur J Endocrinol* 157 (3): 319-324 (2007).



- **Wörsinger F:** Findet bei Kindern mit Adrenogenitalem Syndrom die Adrenarche statt? Dissertation Medizinische Fakultät der Universität Ulm (2001).
- **Wudy SA:** Massenspektrometrie in der medizinischen Diagnostik. Sozialpädiatrie, Kinder- und Jugendheilkunde 21 (7-8): 242-246 (1999).
- **Wudy SA, Hagemann S, Dempfle A, Ringler G, Blum WF, Berthold LD, Alzen G, Gortner L, Hebebrand J:** Children with idiopathic short stature are poor eaters and have decreased body mass index. Pediatrics 116 (1): E52-7 (2005).
- **Wudy SA, Hartmann MF:** Mass Spectrometry in the Diagnosis of Steroid- Related Disorders: Clinical Application. In Ranke MB, Mullis PE: Diagnostics of Endocrine Function in Children and Adolescents, ed. 4. Basel, Karger, 379–401 (2011).
- **Wudy SA, Hartmann MF, Remer T:** Sexual dimorphism in cortisol secretion starts after age 10 in healthy children: urinary cortisol metabolite excretion rates during growth. Am J Physiol Endocrinol Metab 293: E970-E976 (2007).
- **Wudy SA, Homoki J, Teller WM:** Clinical Steroid Analysis by Gas Chromatography-Mass Spectrometry. In Niessen WMA: Current Practice of Gas Chromatography-Mass Spectrometry 309-339, Marcel Dekker Inc (2001).

## Erklärung zur Dissertation

„Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig und ohne unzulässige Hilfe oder Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder nichtveröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der „Satzung der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ niedergelegt sind, eingehalten sowie ethische, datenschutzrechtliche und tierschutzrechtliche Grundsätze befolgt. Ich versichere, dass Dritte von mir weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen, oder habe diese nachstehend spezifiziert. Die vorgelegte Arbeit wurde weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde zum Zweck einer Promotion oder eines anderen Prüfungsverfahrens vorgelegt. Alles aus anderen Quellen und von anderen Personen übernommene Material, das in der Arbeit verwendet wurde oder auf das direkt Bezug genommen wird, wurde als solches kenntlich gemacht. Insbesondere wurden alle Personen genannt, die direkt und indirekt an der Entstehung der vorliegenden Arbeit beteiligt waren. Mit der Überprüfung meiner Arbeit durch eine Plagiatserkennungssoftware bzw. ein internetbasiertes Softwareprogramm erkläre ich mich einverstanden.“

---

Ort, Datum

---

Unterschrift

## Danksagung

Ich danke dem Vater im Himmel für seinen Segen und dafür, dass er mir so viel Gutes in meinem Leben beschert hat. Ohne Dich wäre ich nicht da, wo ich jetzt bin.

Herrn Prof. Dr. Stefan A. Wudy danke ich sehr herzlich für die Überlassung dieses interessanten Themas. Danke auch für Ihre Geduld und die Diskussionsbereitschaft.

Auch möchte ich mich bei Frau Dr. Michaela F. Hartmann und den weiteren Mitarbeitern des Steroidlabors der Gießener Kinderklinik für die Steroidhormonanalyse bedanken.

Dank gilt auch Herrn Wolfgang Pabst vom Institut für medizinische Informatik der Uni Gießen für die statistische Beratung.

Auch bei Frau Dr. rer. net. Monika Kriner aus Puchheim möchte ich mich sehr herzlich für die statistische Beratung und Hilfe bei der Analyse bedanken.

Bedanken möchte ich mich auch bei meiner langjährigen Freundin Dr. med. Sandra Köhl für ihre motivierenden Worte und den Ansporn.

Für seine moralische Unterstützung und seine Geduld danke ich meinem Mann.

Nicht zuletzt danke ich auch sehr meinen lieben Eltern für ihre Unterstützung und ihren Glauben an mich. Nicht nur in Bezug auf die Doktorarbeit, sondern auch während meiner gesamten Ausbildung waren sie stets für mich da. Ihnen widme ich diese Arbeit.